ORSAY
Série A. N° d'ordre : 214

Centre de Documentation
C.N.R.S.
A.O. N° 1224

THÈSES

PRESENTEES

A LA FACULTE DES SCIENCES
DE L'UNIVERSITE DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

PAR

CARLOS SOSA MOSS

1re THÈSE

CONTRIBUTION A L'ETUDE D'UN NEMATODE PHYTOPARASITE: Heterodera avenae WOLLENWEBER

2e THÈSE

PROPOSITIONS DONNEES PAR LA FACULTE

SOUTENUES LE 15/12/1966 DEVANT LA COMMISSION D'EXAMEN:

MM POSSOMPES — PRESIDENT
BERGERARD, LE BERRE — EXAMINATEURS
RITTER — INVITE

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

A V A N T - P R O P O S

-:-:-:-:-:-:-:-

Qu'il me soit permis d'exprimer ma profonde gratitude à tous ceux qui m'ont aidé et qui m'ont permis de réaliser ce travail.

Venu en France grâce à une bourse d'étude accordée par le Ministère des Affaires Etrangères, je dois d'abord remercier le Gouvernement Français de la faculté qu'il m'a donnée de séjourner dans un laboratoire de ce pays, d'y vivre et d'effectuer les nombreux déplacements nécessités par la nature du travail entrepris.

Ma reconnaissance va également à la Station de Recherches sur les Nématodes, laboratoire qui m'a accueilli, et à son Directeur M. RITTER qui m'a encouragé et conseillé dans mes recherches et qui a aplani toutes les difficultés matérielles. J'ai été également beaucoup aidé à Antibes par M. BILIOTI, Directeur de la Station de Recherches de Lutte Biologique et de Zoologie Agricole et Administrateur du Centre de Recherches Agronomiques de Provence.

A travers ce centre de recherches agronomiques, je remercie très vivement l'Institut National de la Recherche Agronomique et son Directeur Général, M. BUSTARRET, ainsi que M. TROUVELOT, Chef du département Zoologie Agricole.

M. LE BERRE, Professeur à la Faculté des Sciences d'Orsay, a dirigé mon travail dès le début ; il l'a suivi pas à pas et a consacré beaucoup de son temps à me guider dans une rédaction qui m'était difficile ; qu'il reçoive ici le témoignage de toute ma gratitude.

Je remercie M.M. POSSOMPES et BERGERARD, Professeurs à l'Université de Paris, qui m'ont fait l'honneur d'accepter et de juger ce travail.

En présentant cette thèse, je n'oublie pas ceux auxquels je dois une formation scientifique et agronomique, en particulier M.M. Basilio ROJAS et Oscar BRAUER, ancien et actuel directeurs du Colegio de Post-graduados de la Escuela Nacional de Agricultura de Chapingo, México. Ma reconnaissance va également à El Banco de México S.A., qui m'a beaucoup aidé sur le plan financier.

J'ai pu réaliser la majeure partie de mon travail grâce à l'aide de la Coopérative Agricole Lauragaise, de son directeur technique M. PIAT et de ses collaborateurs qui m'ont accueilli et introduit dans leur région et qui m'ont envoyé chaque semaine, durant deux ans, sans défaillance, les échantillons de sols et de plantes qui m'étaient indispensables.

Que M. ARNOUX, Directeur du Laboratoire de Biométrie du C.N.R.A. de Versailles qui a dirigé et interprêté les études statistiques, reçoive également le témoignage de ma gratitude.

Je tiens enfin à remercier tout spécialement l'ensemble du personnel de la Station de Recherches sur les Nématodes d'Antibes et celui des autres services pour l'amitié et l'aide qu'ils n'ont cessé de m'apporter, en particulier Mmes AUGE, BONIFASSI, CLAUDEL et MASSOUTIER, M.M. CAYROL, CUANY, DALMASSO et SCOTTO LA MASSESE. C'est grâce à eux que mon mémoire a pu être réalisé.

UNIV. LEIDEN BIBL.

-:-:-:-:-:-:-:-

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546821_0034

TABLE DES MATIERES

-:-:-:-:-:-

INTRODUCTION

A - HISTORIQUE DE LA DECOUVERTE ET DE L'INDIVIDUALISATION DE L'ESPECE..... 1

B - REPARTITION GEOGRAPHIQUE ET IMPORTANCE DES PROBLEMES POSES PAR L'ESPECE ETUDIEE..... 2

C - DISTRIBUTION EN FONCTION DE LA PLANTE-HOTE.....

CHAPITRE I : MATERIEL ET METHODES

A - MATERIEL..... 10

1 - Le Nématode étudié..... 10

2 - Plantes ayant été utilisées durant l'étude..... 15

B - TECHNIQUES ET METHODES..... 16

1 - Techniques d'extraction et modifications apportées aux méthodes classiques..... 16

2 - Techniques d'études en conditions naturelles..... 23

3 - Etudes au laboratoire..... 26

CHAPITRE II : ETUDES MORPHOLOGIQUES

A - OEUF..... 35

B - LARVE INFECTIEUSE DU 2EME STADE..... 36

C - MODIFICATIONS MORPHOLOGIQUES, ANATOMIQUES ET DIFFERENCIATION DES SEXES PENDANT LES TROISIEMES ET QUATRIEMES STADES LARVAIRES..... 39

1 - Modifications diverses concomitantes à l'évolution de la gonade après la pénétration dans l'hôte..... 40

2 - Evolution de l'ébauche génitale..... 43

D - DESCRIPTION DU MALE ADULTE..... 44

1 - Caractères morphométriques du mâle..... 44

2 - Rapports biométriques entre le mâle et la larve du 2ème stade..... 45

E - DESCRIPTION DE LA FEMELLE AVANT ET APRES LA FORMATION DU KYSTE. 46

1 - Description de la femelle adulte et vivante..... 46

2 - Description du kyste..... 47

3 - Caractères morphométriques du kyste..... 52

4 - Relations entre les dimensions du kyste, le nombre et la taille d'oeufs contenus et la longueur des larves émises. 53

5 - Formes aberrantes..... 56

F - DISCUSSION ET CONCLUSION..... 57

.../...

TABLE DES MATIERES

-:-:-:-:-:-

INTRODUCTION

A - HISTORIQUE DE LA DECOUVERTE ET DE L'INDIVIDUALISATION DE L'ESPECE 1

B - REPARTITION GEOGRAPHIQUE ET IMPORTANCE DES PRINCIPALES POSES PAR L'ESPECE ETUDIEE 2

C - DISTRIBUTION EN FONCTION DE LA PLANTE-HOTE .....

CHAPITRE I : MATERIEL ET METHODES

A - MATERIEL 10

1 - Le Nématode étudié 10

2 - Plantes avant été utilisées durant l'étude 15

B - TECHNIQUES ET METHODES 16

1 - Techniques d'extraction et modifications apportées aux méthodes classiques 16

2 - Techniques d'études en conditions naturelles 23

3 - Etudes au laboratoire 25

CHAPITRE II : ETUDES MORPHOLOGIQUES

A - OEUF 35

B - LARVE INFECTIEUSE DU 2EME STADE 36

C - MODIFICATIONS MORPHOLOGIQUES, ANATOMIQUES ET DIFFERENCIATION DES SEXES PENDANT LES TROISIEMES ET QUATRIEMES STADES LARVAIRES 39

1 - Modifications diverses concomitantes à l'évolution de la nymphe après la pénétration dans l'hôte 40

2 - Evolution de l'ébauche génitale 43

D - DESCRIPTION DU MALE ADULTE 44

1 - Caractères morphométriques du mâle 44

2 - Rapports biométriques entre le mâle et la larve du 2ème stade 45

E - DESCRIPTION DE LA FEMELLE AVANT ET APRES LA FORMATION DU KYSTE. 46

1 - Description de la femelle adulte et vitante 46

2 - Description du kyste 47

3 - Caractères morphométriques du kyste 52

4 - Relations entre les dimensions du kyste, le nombre et la taille d'oeufs contenus et la longueur des larves émises. 53

5 - Formes aberrantes 56

F - DISCUSSION ET CONCLUSION 57

CHAPITRE III : CARACTERES BIOLOGIQUES

A - VITESSE ET DUREE DU DEVELOPPEMENT EN CONDITIONS CONTROLEES..... 59

1 - Données générales..... 59

2 - Etudes des différentes phases du développement et de la reproduction..... 60

a - Ovogenèse et fécondation..... 60

b - Embryogenèse..... 61

c - Développement post-embryonnaire..... 65

B - ETUDE PARTICULIERE DE LA FECONDATION..... 72

1 - Description du phénomène..... 72

2 - Nécessité du mâle dans la reproduction..... 74

3 - Sex-ratio et exemple de taux de prolifération..... 76

C - ECLOSION DES OEUFS ET ETUDE PARTICULIERE DU PHENOMENE DE DIAPAUSE..... 76

1 - Généralités..... 78

2 - Etude expérimentale de l'éclosion..... 81

D - DISCUSSION ET CONCLUSION..... 92

1 - Nombre de stades et durée totale du cycle dans les conditions de laboratoire..... 93

2 - La fécondation des femelles..... 93

3 - La période de dormance..... 94

CHAPITRE IV : ECOLOGIE DE L'ESPECE

A - GENERALITES..... 95

B - REPARTITION DES DIFFERENTS STADES BIOLOGIQUES AU COURS DE L'ANNEE..... 97

C - FACTEURS DETERMINANT L'ACTIVITE SAISONNIERE DES POPULATIONS D'H. avenae..... 101

1 - Etude du rôle de la température dans des coffres de plein air à Antibes..... 102

2 - Effets de la pluviométrie et de la température sur l'activité d'H. avenae en plein champ à Castelnaudary... 102

D - DISCUSSION ET CONCLUSION..... 104

CHAPITRE V : ANALYSE DES RELATIONS PLANTES-NEMATODES

A - GENERALITES..... 107

1 - Exposé du problème..... 107

2 - Conditions déterminant l'intensité de l'attaque de H. avenae..... 107

3 - Symptomatologie de la maladie..... 108

.../...

B - LES RELATIONS PLANTE-PARASITE..... 110

1 - Importance du niveau de la population sur les relations hôte-Nématode..... 110

2 - Influence de l'hôte sur les relations hôte parasite..... 114

3 - Agressivité particulière de la population lauragaise d'H. avenae..... 117

C - DISCUSSION ET CONCLUSION..... 124

CONCLUSIONS GENERALES..... 125

-:-:-:-:-:-

B - LES RELATIONS PLANTE-PARASITE..... 110

1 - Importance du niveau de la population sur les relations hôte-Nématode..... 110

2 - Influence de l'hôte sur les relations hôte parasite..... 114

3 - Agressivité particulière de la population Isparsaise d'H. avenae..... 117

C - DISCUSSION ET CONCLUSION..... 124

CONCLUSIONS GENERALES..... 125

-:-:-:-:-:-

CONTRIBUTION A L'ETUDE D'UN NEMATODE PHYTOPARASITE, Heterodera avenae, WOLLENWEBER

INTRODUCTION

A - HISTORIQUE DE LA DECOUVERTE ET DE L'INDIVIDUALISATION DE L'ESPECE -

C'est en saxe (Allemagne) que KUHN rencontre pour la première fois en 1874 un Nématode formant des kystes sur les racines d'avoine. Cet auteur considère alors qu'il s'agit du Nématode de la betterave, H. schachtii. Peu à peu, ce parasite apparaît comme un grave fléau pour l'avoine dans toute l'Allemagne, mais personne, durant les trente années qui suivent, n'entreprend une étude détaillée de la morphologie et des caractères de ce parasite.

Au début du siècle paraît au Danemark une publication de MORTENSEN, ROSTRUP et KØPLIN RAVN (1908) qui nomment ce Nématode Heterodera schachtii var. avenae. WOLLENWEBER (1924) le décrit aussi sous ce nom avec plus de précision en indiquant ses principales différences biométriques avec H. schachtii vivant sur betterave, mais il le considère aussi comme une variété.

En 1930, SCHMIDT élève cette variété au rang de sous-espèce, mais il change son nom en H. schachtii major en raison de la taille de ses larves, plus grande que celle observée pour les populations vivant sur la betterave.

Cette dénomination fut alors adoptée d'une manière générale jusqu'en 1934, date à laquelle FILIPJEV tirait de l'oubli l'ancienne appellation avenae en même temps qu'il élevait pour la première fois ce Nématode au rang d'espèce. Cette conception n'a d'ailleurs pas réuni alors l'unanimité des chercheurs intéressés dont beaucoup ont continué à parler de la "race de l'avoine" d'Heterodera schachtii.

En 1940 (a) FRANKLIN, dans une étude morphologique d'ensemble du complexe H. schachtii de l'époque (qui renferme plusieurs sous-espèces et variétés), montre qu'il y avait effectivement des différences profondes entre les Heterodera de la betterave et de l'avoine. Cet auteur considère la même année (1940b) que ce dernier était une espèce véritable qu'il dénomme H. major SCHMIDT (1930).

.../...

FRANKLIN (1951) justifie à nouveau cette appellation en invoquant le fait que, malgré leur importance, les caractères morphologiques donnés à l'origine par MORTENSEN et al. (1908) pour la variété avenae, ne sont pas suffisants pour répondre aux exigences d'une description valable et, en plus, ce nom n'a jamais été utilisé, ce qui met cette dénomination en nomen nudum. Mais il y a eu des auteurs qui ont publié abondamment sur l'espèce et qui, pour une grande part, ont continué à suivre la position de FILIPJEV, et on trouve parmi ceux-ci des références sur H. avenae ce qui a entraîné une extrême confusion durant vingt-cinq ans.

Aussi en se basant sur l'usage le plus fréquent, trois auteurs représentant les tendances contradictoires, FRANKLIN, THORNE et OOSTENBRINK proposent conjointement, en 1959, à la Commission Internationale de Nomenclature Zoologique de stabiliser le nom scientifique de l'Anguillule des céréales et d'attribuer la priorité à WOLLENWEBER qui avait donné en 1924 une diagnose suffisamment valable de ce Nématode.

En 1960 (b), OOSTENBRINK signale le dépôt dans les collections du Plantenziektenkundige Dienst de Wageningen, d'un néotype d'H. avenae WOLL. provenant d'Aschersleben (Allemagne).

Le statut actuel est donc le suivant :

- H. avenae Woll. -

Synonymes :

- H. schachtii var. avenae MORTENSEN, ROSTRUP et KØPLIN RAVN, 1908,
- H. schachtii var. avenae WOLLENWEBER, 1924,
- H. schachtii major O. SCHMIDT, 1930,
- H. avenae FILIPJEV, 1934,
- H. major SCHMIDT, 1930,
- H. avenae WOLLENWEBER, 1924 (FILIPJEV, 1934).

B - REPARTITION GEOGRAPHIQUE ET IMPORTANCE DES PROBLEMES POSES PAR L'ESPECE ETUDIEE -

Plus que tout autre genre de Nématode phytophage, Heterodera groupe une série d'espèces particulièrement redoutables pour les plantes cultivées. Leur nombre dépasse actuellement une vingtaine, mais quelques-unes sont inféodées aux cultures les plus essentielles, tel H. rostochiensis qui provoque de tels dégâts sur la pomme de terre qu'on le considère comme un des plus graves ennemis de l'agriculture mondiale, et qui a incité beaucoup de pays à créer un laboratoire de phytonématologie, ainsi qu'à réglementer les mesures sanitaires dans les exportations.

.../...

H. schachtii diminue considérablement les rendements en betterave dans plusieurs régions du monde et nous sommes convaincus que le rôle d'H. avenae n'est pas moindre vis-à-vis des céréales.

Outre les dommages directs, ces Nématodes dont le kyste est une forme de résistance et de dissémination exceptionnelle, peuvent aussi favoriser la pénétration ou le développement d'autres agents pathogènes et être la cause de maladies plus complexes. Comme exemple, citons les relations existant entre H. rostochiensis et le champignon Rhizoctonia solani (MORGAN, 1926 ; DUNN et HUGHES, 1964).

1 - Importance mondiale de l'espèce.

Actuellement, on peut considérer qu'H. avenae est largement répandu dans les zones céréalières. On la trouve présente partout où la culture des céréales est pratiquée, c'est-à-dire dans toute l'Europe et probablement dans la plupart des pays du monde.

Depuis la découverte par KUHN (1874) d'un Nématode à kystes sur avoine dans le sud de l'Allemagne, d'innombrables travaux ont signalé sa présence et l'acuité du problème qu'il pose dans les contrées les plus diverses de ce pays. GOFFART en 1949 signale des pertes de récoltes allant jusqu'à 50 % et, plus tard (1960a), il le place parmi les parasites les plus dangereux et les plus répandus des céréales. Mais déjà, dès le début du siècle, ce Nématode était également considéré comme un parasite dangereux dans plusieurs pays.

FILIPJEV et SCHURMANS-STEKHOVEN (1941) considèrent dans leur traité d'Helminthologie Agricole, qu'Heterodera avenae est surtout abondant dans les régions où l'hiver est relativement doux et où l'été est chaud et humide. Il explique ainsi l'importance de ce parasite dans le nord de l'Europe centrale, le sud de la Suisse, au Danemark, aux Pays-Bas, en Allemagne, en Tchécoslovaquie et en Angleterre.

THEOBALD (1908 et 1909) signale en Angleterre des dégâts imputables à H. avenae. Plus tard, d'autres chercheurs, parmi lesquels EDWARDS (1935), DUTHOIT et NEWTON (1962), Anonyme (1955), HESLING (1956), SOUTHEY (1956), STONE (1956), COLLINGWOOD (1962), DUTHOIT (1964), GAIR (1965 etc..., étudièrent en détail la répartition de l'espèce dans ce pays. Après avoir prospecté les différentes régions céréalières de l'Angleterre et du Pays de Galles, SOUTHEY (1955) conclut que l'importance économique des dégâts et l'aire de distribution d'Heterodera avenae sont en nette augmentation, probablement en raison de l'intensification de la culture des céréales dans ce pays et notamment de celle de l'orge ; mais d'après ROLFE (1959), ce Nématode doit être indigène en Angleterre en raison de sa grande distribution. Avant SOUTHEY, déjà THOMAS, BROWN et WILLIS (1946) avaient souligné l'importance des dégâts d'H. avenae au nord du Pays de Galles et DAVIES (1962) y confirme l'acuité du problème.

.../...

Sans que l'on puisse avoir de certitude dans ce domaine, on peut effectivement penser que la découverte de ce parasite résulte souvent de l'intensité de la prospection, ainsi un rapport Anonyme (1953), signale en 1952-1953 d'important dégâts sur céréales en Irlande, alors que CARROL affirmait en 1939 que l'espèce n'existait pas dans ce pays. En Ecosse, CAMERON (1946) et DUNN (1957) remarquent sa large distribution et le signalent comme un fléau pour les céréales. La maladie est considérée comme un fait courant au Danemark depuis très longtemps, grâce au travail de MORTENSEN et al. publié dès 1908 ; récemment dans ce même pays ANDERSEN (1961), évalue les pertes annuelles des récoltes par ce Nématode à 50 millions de couronnes. Il rapporte aussi sa présence en Suède tandis qu'en Norvège cette espèce était déjà signalée depuis 1926 par SCHØYEN et, plus tard, STØEN (1961) souligne son importance.

En Suisse, c'est SAVARY (1957) qui met en évidence l'intérêt économique du Nématode des céréales et, en 1953, MEZETTI décrit en Emilie (Italie) une maladie vermiculaire du blé, provoquée encore par H. avenae.

De forts dommages dé ce parasite sur céréales sont également signalés en Hollande par DIJKEMA (1947) et HARTSUIJKER (1947), notamment dans la région du Wieringermeerpolder et, plus tard, KORT et JACOB (1956) et KORT (1957) citent H. avenae comme un des problèmes agricoles d'importance majeure dans ce pays. Ce dernier informe que les kystes de ce Nématode étaient présents dans 60 % des sols prélevés dans les régions céréalières hollandaises.

En Pologne, WILSKI (1960) trouve H. avenae dans le district de Bydgoszcz pendant les années de 1957 à 1959 et constate que la moitié des sols est infestée.

KIRJANOVA (1941) et SVESHNIKOVA (1956) le signalent en U.R.S.S. et, plus tard, MAMONOVA (1959) rapporte dans la région de Bashkir de forts dégâts sur plusieurs céréales, dont le maïs qui n'était pas connu comme un hôte d'H. avenae. Finalement LADYGUINA (1962) découvre à son tour le Nématode des céréales en Ukraine.

L'espèce n'est pas rare en Afrique du Nord où sa présence a été reconnue au Maroc par FRANKLIN en 1949 ; elle a été décelée aussi en Tunisie par DELANOUE (1953) et RITTER (1961). En Algérie SCOTTO LA MASSESE (1961) la range entre les espèces nuisibles à l'économie de ce pays. De plus elle a également été signalée par MINZ (1957) en Israël.

D'après CHRISTIE (1959), H. avenae existe aussi au Japon. Plus récemment, il a été découvert dans le nord de l'Inde par PRASAD, MATHUR et SEHGAL (1959) et ses dégâts sont confirmés par SWARUP et SINGH (1961), en particulier dans la région de Rajasthan où ce Nématode attaque le blé et l'orge. Toujours dans le même district, SWARUP, PRASAD et RASKI (1964) constatent que certaines variétés de maïs sont également attaquées et ils confirment le fait expérimentalement.

DAVIDSON d'abord et après DAVIDSON et HICKINBOTHAN ont trouvé le parasite en Australie en 1930, mais d'après MILIKAN (1938 a et b) celui-ci était déjà connu dans cette contrée depuis 1906.

Enfin, sur le continent américain, l'espèce a été identifiée au Canada dès 1935 par PUTMAN et THORNE et sa distribution et son importance économique sont soulignées par PUTMAN et CHAPMAN la même année. Plus tard, CHAPMAN (1938), seul d'abord, puis avec BAKER (1946), remarque que l'espèce est endémique dans toutes les régions céréalières de l'Ontario. Ce dernier (1945) et LAUGHLAND (1947) signalent sa large distribution surtout dans le sud-ouest de cette contrée, principalement sur avoine, blé et orge, mais FUSHTEY (1965) relève en plus l'existence de forts dégâts sur maïs. Par contre, nous n'avons trouvé aucune mention dans la littérature de la présence d'H. avenae aux U.S.A., ni en Amérique latine.

2 - Importance et répartition de l'espèce en France.

L'existence d'H. avenae est connue dans la plupart des pays d'Europe depuis le début du siècle, mais en France ce Nématode est signalé depuis quelques années seulement. RITTER (1961) rapporte que des kystes appartenant à cette espèce et provenant de racines de blé qui dépérissaient dans la région de Castelnaudary (Aude) avaient été identifiés dès 1953. Ce même chercheur a observé des dégâts importants dûs à ce parasite dans le Lauragais, la Champagne, la Bretagne, la région parisienne et le Nord. Il note de plus que le Nématode a une très large répartition car, lorsque l'on effectue des recherches de routine sur d'autres Heterodera, H. schachtii par exemple, on trouve H. avenae dans près de 50 % des échantillons analysés.

Au cours de cette étude nous avons tenté d'apporter quelques précisions sur la répartition de l'espèce en France. Il n'a pas été fait d'échantillonnage systématique dans toutes les régions, mais, grâce au concours du Laboratoire d'analyse de la Station d'Antibes, nous avons pu relever l'existence de ce Nématode sur de nombreuses graminées tant cultivées que spontanées. Le caractère disparate des nombreux prélèvements effectués au hasard et la fréquence de l'espèce dans ceux-ci nous permettent d'affirmer que H. avenae est bien endémique en France (voir carte et liste des localités), (Fig. 1).

LISTE DES LOCALITES ABRITANT Heterodera avenae

Année	Culture	Localité	Département
1953	blé	Crépiac	31
1953	blé	Castelnaudary	11
1954	avoine	Versailles	78
1955	blé	Aix-en-Provence (La Calade)	13
1 56	blé	Valréas	84
1959	avoine	St-Laurent-du-Var	06
1959	blé	La Malletournée	51
1959	orge	Lenbarcé	51
1960	avoine	Villiers-Adam	78
1960	blé	Romilly-sur-Seine	10
1960	blé	Cornentray	51
1960	blé	Orléans	45
1960	blé	Wez-Marne	51
1960	blé	Grignon	78
1960	orge	Plomadiem	29
1960	blé	Villiers/Morin	77
1960	avoine-orge	Egriselles-le-Boccage	89
1961	blé	Reims	51
1961	avoine	Troyes	10
1961	avoine	Orléans	45
1961	blé	Fortef	20
1962	blé	Toulouse	31
1962	avoine	Auxerre	89
1962	avoine	La Chapelle	45
1962	orge	Mens	38
1962	avoine	Reims	51
1963	orge	Nantes	44
1963	orge	Dijon	21
1963	orge	Cambrai	59
1963	orge	Trouville	14
1963	avoine	St-Georges-du-Bois	17
1963	avoine	Epoissot	21
1964	orge	Quimper	29
1964	orge	Niort	79
1965	blé	Cordes	81
1965	blé	Revel	31
1965	avoine	Nancy	54
1965	avoine	Sergines	89
1965	avoine	St-Maurice-aux-Riches-Hommes	89
1965	orge	Puiseaux	45
1966	inconnue	Hyères	83
1966	blé	Richelieu	37
1966	inconnue	Toulouse	31
1966	avoine	Versailles	78
1966	orge	Niort	79

3 - La maladie vermiculaire du blé dans le Lauragais.

Notre étude, commencée en 1964, porte principalement sur du matériel provenant du Lauragais et plus spécialement de la zone céréalière de Castelnaudary. Grâce à la collaboration du service technique de la Coopérative Agricole du Lauragais (Ferme Expérimentale de Loudes), nous avons pu prospecter largement cette zone, reconnaître les terrains les plus attaqués et prendre un contact concrêt avec les problèmes pratiques posés par ce Nématode. Nous avons pu ainsi nous rendre compte rapidement du caractère généralisé des attaques

.../...

d'H. avenae dans toute cette région naturelle. Il avait déjà été indiqué (RITTER, 1961) que sur 20.000 ha plantés en céréales, 50 % environ souffraient de dépérissements dûs à ce Nématode et qu'en 1959 3.000 ha avaient été entièrement anéantis. Lors des enquêtes que nous avons effectuées au cours de ces dernières années, nous avons constété que la maladie y est endémique et que les parcelles sont toutes plus ou moins infestées. C'est en partie pour cette raison que la culture des céréales est en nette régression dans le Lauragais ; cette constatation a conduit à modifier des assolements qui tendaient à faire du blé une monoculture, pour essayer de ne le faire revenir que tous les trois ou quatre ans. Cette céréale a même été totalement proscrite depuis de nombreuses années des parcelles les plus infestées, (Fig. 2).

C - DISTRIBUTION EN FONCTION DE LA PLANTE-HOTE -

1 - Plantes de grandes cultures attaquées par H. avenae

D'après SHEPHERD (1965) la distribution du Nématode apparaît fortement déterminée par celle de ses principaux hôtes, bien que d'autres facteurs puissent aussi intervenir.

Depuis la découverte en 1874 des premiers kystes dans des racines de Avena sativa, d'autres céréales ont été mentionnées comme hôtes d'H. avenae. Ainsi, nous savons que le blé, l'orge, le seigle hébergent aussi cette espèce, notamment en Europe. Cependant, comme nous l'avons déjà indiqué, ce Nématode aurait également été observé sur des racines de maïs, pour la première fois en U.R.S.S. (MAMONOVA, 1959), puis au nord de l'Inde (SWARUP, PRASAD et RASKI 1964) et, récemment, au Canada (FUSHTEY, 1965).

En France et, en particulier, dans le sud-ouest (Lauragais), H. avenae occasionne des dommages sur l'orge, l'avoine et le blé, ce dernier étant le plus touché, alors que le sorgho et le maïs échappent aux attaques. Ailleurs, on le connaît surtout sur avoine ou orge et en dernier lieu moins fréquemment sur blé. Le trop petit nombre d'échantillons examinés provenant des autres régions françaises ne nous permet cependant pas d'être plus précis. Deux observations effectuées sur des échantillons provenant de Colmar (Haut-Rhin) et Pocaney (Marne) permettent de penser qu'H. avenae peut se développer sur maïs, mais toutes les tentatives faites au laboratoire à partir du même matériel ont échoué et le fait n'est pas encore confirmé. Toutefois, nous avons déjà un tableau général des différentes populations de l'espèce recensées en France et ceci nous suggère l'existence de diverses races biologiques dont la distribution exacte reste à préciser. Il est cependant intéressant de souligner que la population du Lauragais a comme hôte préférenciel le blé, par opposition avec les autres populations européennes connues où l'avoine est la plante la plus favorable. Ceci la rapproche plutôt de la population signalée en Australie par MILLIKAN (1938a).

.../...

2 - Plantes fourragères et spontanées hôtes de H. avenae

Plusieurs auteurs, parmi lesquels FRANKLIN (1951) et WINSLOW (1954) ont établi des listes de plantes-hôtes d'H. avenae. Nous citons, ci-dessous, la plus récente donnée par GOODEY, FRANKLIN et HOOPER (1965) qui groupe toutes les données recueillies par le "Nematology Department de la Rothamsted Experimental Station".

Liste des hôtes d'H. avenae :

Agropyron repens BEAUV. ; Agrostis canina L. (1) ; Alopecurus pratensis L. ; Anisantha madritensis (L.) NEVSKI. (1) ; A. rigida (ROTH) HYLANDER (1) ; A. sterilis (L.) NEVSKI ; Apera spica-venti (L.) BEAUV. ; Arrhenatherum elatius (L.) V. and C. PRESL ; Avena abyssinica HOCHST ; A. fatua L. ; A. sativa L. ; A. sterilis L. (1) ; A. strigosa SCHREB ; Brachypodium ponticum VELEN ; Brachypodium sylvaticum (1) ; Bromus arvensis L. : B. mollis L. (1) ; B. rubens L. (1) ; B. secalinus L. (1) ; Dactylis glomerata L. ; Digitaria sanguinalis (L.) SCOP ; Festuca hetetophylla LAM ; F. juncifolia St. Am. ; F. ovina L. ; F. pratensis HUDS ; F. rubra L. ; F. trachyphylla (HACK.) KRAJINA ; Hordeum distichon L. ; H. rubatum L. ; H. marinum HUDS ; H. murinum L. ; H. spontaneum C. KOCH ; H. vulgare L. ; Koeleria gracilis PERS. ; K. phleoides PERS. ; Lolium x Hybridum HANSSKN (1) ; Lolium multiflorum LAM. ; L. perenne L. ; L. temulentum L. ; Phalaris canriensis L. ; P. minor RET. ; P. paradoxa L. ; Phleum pratense L. ; Poa annua L. (1) ; P. nemoralis L. ; P. palustria L. ; P. pratensis L. ; P. trivialis L. ; Secale cereale L. ; Setaria viridis (L.) BEAUV. (1) ; Sorghum vulgare PERS. ; Trisetum flavescens (L.) BEAUV. (1) ; Triticum aegilopoides ; T. aestivum = T. vulgare WILL. ; T. dicoccum SOLVRANK ; T. durum DESF. (1) ; T. monococcum L. ; T. polonicum L. ; T. spetta L. : Vulpia geniculata ; Zerna inermis (LEYSS) LINDM.

On peut ajouter à cette liste Zea mais L. signalé comme hôte en Russie, Inde et au Canada.

Comme on peut le constater, cette espèce, quoique polyphage, n'en est pas moins liée aux seules graminées. La connaissance des graminées sauvages et cultivées qui permettent l'entretien et la multiplication de l'espèce revêt donc une importance primordiale car plusieurs de ces plantes se rencontrent communément dans les zones céréalières à l'état spontané ou subspontané.

.../...

---

(1) - Le chiffre qui suit parfois les noms latins des végétaux indique qu'il y a doute sur le nom exact du parasite ; dans la liste d'hôtes donnés par J.B. GOODEY, FRANKLIN et HOOPER (1965), il y a un point d'interrogation qui suit le nom H. schachtii (ces auteurs pensent qu'il s'agit plutôt d'H. avenae.

Ces végétaux constituent des réservoirs permanents pour l'Heterodera en dehors des zones et des périodes de cultures. Les kystes étant déjà une forme de survie, ces hôtes supplémentaires contribuent surtout à prolonger et à augmenter le niveau des populations dans les terrains déjà infestés. Cela rend plus difficile l'élimination de l'espèce par des rotations culturales ou même par la jachère. Dans ce cas, en effet, les populations résiduelles, malgré un niveau de départ peu élevé, se multiplient toujours très rapidement sur les céréales réintroduites dans le programme de cultures d'une exploitation.

CHAPITRE I - MATERIEL ET METHODES

A - MATERIEL

1 - Nématode étudié.

a - Position systématique et caractéristiques morphologiques.

L'espèce H. avenae WOLL. appartient à la famille des Heteroderidae dont la diagnose, selon T. et J.B. GOODEY (1963) est la suivante :

Famille Heteroderidae (FILIPJEV, 1934) SKARBILOVICH 1947

Syn. : Heteroderinae FILIPJEV, 1934

Meloidogyninae SKARBILOVICH, 1959.

Tylenchoidea - - Stylet et armature céphalique bien développés, du moins chez le mâle. Bulbe oesophagien médian, ovale. Les glandes oesophagiennes forment un prolongement en lobe au-dessus de l'intestin. Les femelles sont obèses ou subsphériques avec deux ovaires ; la vulve est généralement subterminale. Les mâles sont vermiformes avec une queue très courte à l'extrémité arrondie ; ils n'ont pas d'ailes caudales et possèdent un ou deux testicules.

Cette famille possède quatre genres Heterodera SCHMIDT 1871, Meloidogyne GOELDI 1887, Meloidodera CHITWOOD et al. 1956 et Hypsoperine ; ce dernier très récemment décrit par SLEDGE et GOLDEN (1964).

Le genre Heterodera se différencie des Meloidodera par la position de la vulve, subterminale chez le premier et subéquatoriale chez le second. On le distingue de Meloidogyne par le fait que la cuticule chez celui-ci ne se durcit jamais et ne donne donc pas de "kyste". De plus, chez le mâle de Meloidogyne, l'ouverture des amphides est plus grande que chez le mâle d'Heterodera (mais ce caractère est extrêmement difficile à apprécier).

Le genre Hypsoperine présente également des différences bien marquées. Celui-ci est très semblable aux Meloidogyne avec lesquels il était confondu. Cependant, la forme générale du corps de la femelle est plus voisine de celle des Heterodera car, d'après la diagnose de SLEDGE et GOLDEN, l'anus et la vulve sont placés sur une protubérance comme dans les cas des espèces citriformes de ce genre, mais la peau est transparente et il ne se forme pas de kystes. Ces auteurs le considèrent comme un genre intermédiaire entre Heterodera et Meloidogyne.

La diagnose du genre Heterodera que l'on peut actuellement proposer est la suivante (en partie d'après T. et J.B. GOODEY, 1963).

Heterodera A. SCHMIDT, 1871

Syn. : Heterobolbus RAILLIET, 1896,

(Heterodera) SKARBILOVICH, 1959,

(Globodera) SKARBILOVICH, 1959.

..../...

Heteroderidae - Les femelles adultes prennent une forme subsphériques et forment un kyste dont la paroi est due au durcissement de plusieurs couches composant la cuticule. La paroi externe de ces kystes présente des ornementations, soit en rides, soit en points. L'ensemble peut être enveloppé d'une sorte de croûte blanchâtre formant une pellicule dite "couche subcristalline". Les femelles d'Heterodera élaborent, en plus ou moins grande abondance selon les espèces, une substance gélatineuse appelée "matrice" ; celle-ci entoure la partie postérieure du Nématode. Bien que les oeufs restent ordinairement à l'intérieur du corps de la femelle, on peut en trouver quelques-uns ou beaucoup dans cette formation, chez certaines espèces.

L'armature céphalique, bien développée chez le mâle, est apparamment absente ou très réduite chez la femelle. Un robuste stylet est présent, il est muni de trois grosses pièces basales sphériques. Les femelles d'Heterodera ont deux ovaires et la vulve subterminale peut se situer sur une proéminence nommée "cône vulvaire", les kystes sont alors appelés "citriformes".

Les mâles sont longs, leur queue est courte et l'ouverture cloacale est subterminale. Les incisures des champs latéraux suivent toute la longueur du corps et se continuent jusqu'à l'extrémité de la queue où ils ne disparaissent que sur le contour transversal. Les phasmides sont plus ou moins adanales. Il n'y a pas d'ailes caudales, les spicules au nombre de deux sont en position presque terminale et accompagnés d'un gubernaculum bien développé.

Bien que pour la reconnaissance des espèces de ce genre on puisse avoir recours aux caractères morphologiques et biométriques des larves (FRANKLIN 1938, FENWICK et FRANKLIN, 1942 et 1951) ou des mâles (FRANKLIN, 1946b), c'est surtout d'après les caractères de la femelle enkystée que s'effectue la détermination des Heterodera. COOPER (1955a), HESLING (1959a), MULVEY (1957, 1960a) et GOFFART (1960b et c) font remarquer l'importance de la région périnéale et des structures qui la forment, dans la détermination spécifique. C'est à COOPER (1955a) que l'on doit la latinisation des mots employés dans la terminologie du groupe, en particulier pour les diverses parties du cône vulvaire des kystes.

A ce sujet, HESLING (1965) indique que pour qu'une description d'Heterodera soit complète, il est préférable de suivre la règle énoncée par J.B. GOODEY (1959) pour les Nématodes en général, mais avec plus de détails pour la forme, la couleur et la taille du kyste, car il s'agit ici d'Heterodera. A ceci il convient de mentionner le profil du cône vulvaire et la localisation des bullae lorsqu'elles existent, le cas échéant, l'aspect de la paroi vaginale ("sheaf-like organ") du "sous-pont" et de ses bras (underbridge) et du "cervix" qui composent les abords de l'orifice génital vu en coupe longitudinale. Dans l'analyse de la silhouette du sommet du cône vulvaire (fenestralia) il faut relever les caractères liés aux fenêtres (forme, symétrie, longueur et largeur des semi-fenêtres), la distance entre l'anus et la vulve ainsi que la longueur de celle-ci et du pont qui l'entoure.

De plus, on signalera le mode d'ornementation de la paroi du kyste, puis la présence, la couleur et l'épaisseur de la couche sub-cristalline, enfin l'existence éventuelle de la matrice avec le nombre d'oeufs qui s'y trouvent. MULVEY (1959c), détaille la région périnéale et il nomme "bassin" la zone entourant les fenêtres, (Fig. 3).

La forme générale du kyste ainsi que l'examen de la région vulvaire permettent de distinguer trois groupes principaux :

- Les kystes ronds avec notamment : H. rostochiensis WOLLENWEBER, 1923,
  H. leptonepia COBB et TAYLOR, 1953,
  H. tabacum LOWNSBERRY et LOWNSBERRY, 1954,
  H. millefolii KIRJANOVA et KRALL, 1965.
- Les kystes piriformes avec : H. punctata THORNE, 1928.
- Les kystes citriformes avec deux sous-groupes, dont :

Les Abullata
- H. cacti FILIPJEV et STEKHOVEN, 1941,
- H. carotae JONES, 1950,
- H. cruciferae FRANKLIN, 1945,
- H. cyperi GOLDEN RAU et COBB, 1962,
- H. fici KIRJANOVA, 1954,
- H. goettingiana LIEBSCHER, 1892,
- H. humuli FILIPJEV, 1934,

Les Bullata
- H. avenae WOLLENWEBER, 1924,
- H. estonica KIRJANOVA et KRALL, 1963,
- H. galeopsidis GOFFART, 1936,
- H. glycines ICHINOHE, 1952,
- H. lespedezae GOLDEN et COBB, 1963,
- H. leuceilyma di EDWARDO et PERRY, 1964,
- H. mothi ABRAR et ISRAR, 1965,
- H. oryzae LUC et BRIZUELA, 1961,
- H. oxiana KIRJANOVA, 1962,
- H. paratrifolii KIRJANOVA, 1963,
- H. rosii DUGGAN et BRENNAN, 1966,
- H. rumicis POGOSYAN, 1961,
- H. sacchari LUC et MERNY, 1963,
- H. schachtii SCHMIDT, 1871,
- H. trifolii GOFFART, 1932,
- H. turcomanica KIRJANOVA et SCHAGALINA, 1965.

.../...

Les espèces suivantes, insuffisamment étudiées, doivent être considérées comme "species inquirendae" :

H. "urticae" COOPER, 1955a,
H. "limonii" COOPER, 1955a,
H. "bifenestra" COOPER, 1955a,
H. "methwoldensis" COOPER, 1955a,
H. "polygoni" COOPER, 1955a,
H. "scleranthii" KAKTINYA, 1957 (1)

Dans le cas des Heterodera citriformes, on distingue chez les Abullata trois groupes : les circumfenestrae, bifenestrae et ambifenestrae. HESLING (1959a) a proposé aussi une subdivision des espèces Bullata en deux groupes d'après la position des bullae : le groupe "major" et le groupe "schachtii".

De plus, certaines espèces constituent vraisemblablement des complexes car les caractères morphométriques et biologiques varient notablement selon les localisations géographiques. C'est le cas d'H. avenae, H. trifolii et H. punctata.

Cependant, tous les chercheurs n'ont pas accepté cette division en trois groupes d'après la forme générale du kyste. MULVEY (1960a) considère seulement deux groupes : les sphérico-piriformes et les citriformes. A notre avis, cette classification serait plus correcte car il est plus logique de séparer les kystes avec cône vulvaire des kystes sans cône vulvaire.

Enfin, dans une publication de 1963 KIRJANOVA signale une nouvelle espèce H. pseudorostochiensis et place curieusement H. tabacum en synonymie avec celle-ci. En même temps, cette chercheuse russe considère les espèces "inquirendae", citées plus haut, comme espèces valables.

Bien que nous donnions plus loin au chapitre concernant l'étude morphologique d'H. avenae la description des différents stades biologiques de l'espèce, il nous semble utile d'indiquer les principaux caractères essentiellement basés sur le kyste qui sont utilisés dans la diagnose :

Les kystes de H. avenae sont citriformes et réguliers, ils se classent parmi les plus grands du genre ; ils sont bruns ou presque noirs et possèdent un cône vulvaire très large. Sur la paroi du kyste on remarque des ornementations nettement en zig-zag parsemées de ponctuations irrégulières ; le kyste nouvellement formé porte une couche subcristalline assez épaisse, à son extrémité postérieure on trouve un sac gélatineux qui ne renferme pas d'oeufs contrairement à d'autres espèces. En vue transversale, le cône vulvaire paraît bien "ouvert", les bullae sont serrées près des fenêtres et il n'y a pas de sous-pont. Les fenêtres sont plus ou moins arrondies et l'ensemble apparaît sous la forme d'un 8. La vulve très courte s'intercale entre ces deux fenêtres. Ces caractères permettent de différencier aisément H. avenae des espèces voisines souvent en grand nombre dans les sols cultivés.

.../...

Du point de vue taxonomique, H. avenae présente des caractères morphologiques très voisins de ceux d'H. schachtii avec lequel il a longtemps été confondu et de ceux d'H. trifolii. Il se distingue plus facilement des autres Heterodera bullata avec lesquels il présente des différences notables de taille, forme, coloration, ornementation cuticulaire, etc...

D'après MULVEY (1960a), H. avenae se distingue des deux espèces précitées par son cône vulvaire plus ouvert et par les bullae qui, resserrées à un niveau plus proche des "fenêtres", masquent ainsi la paroi du vagin. De plus, chez cette espèce, la vulve est plus courte ce qui donne aux "semi-fenêtres" un aspect circulaire. A ce sujet, au cours de la discussion d'une communication de JONES (1952), OOSTENBRINK avait déjà signalé que chez H. avenae l'ouverture vulvaire, courte, apparaît double, alors que chez H. schachtii, plus longue, elle apparaît simple.

DIXON et RYLAND (1964) proposent l'usage de certaines relations morphométriques de la région périnéale, pour séparer les trois espèces : H. avenae, H. schachtii et H. trifolii ; dans ces relations interviennent : la longueur totale des fenêtres, la longueur de l'ouverture vulvaire et la largeur de chaque fenêtre.

Selon HESLING (1965), l'espèce présente également des traits de ressemblance avec H. estonica récemment décrite dont elle diffère toutefois par la forme du kyste, des fenêtres et surtout par la queue des larves, pointue chez H. avenae et émoussée chez H. estonica.

THORNE, en 1961, considère qu'en plus de l'espèce proprement dite H. avenae, il en existe une forme australienne qui se distingue par son cône vulvaire encore plus ouvert. Les ornementations de la paroi y sont plus longitudinales et les larves sont plus petites. Il signale en plus un comportement biologique différent : l'hôte préféré d'H. avenae en Europe est l'avoine et celui de la forme australienne le blé. Cet auteur pense que cette forme amorce le début d'une spéciation. Toutefois, dans les régions de France où le blé est également l'hôte le plus sensible, nous n'avons pu mettre en évidence aucun caractère distinctif de cette nature.

Enfin, selon COOPER (1955a), il y a une variété nommée "H. major var. arenaria" possédant des caractères voisins d'H. avenae. Elle a été découverte sur Ammophila arenaria et diffère de l'espèce par la paroi du kyste moins pigmentée, moins épaisse et de ce fait transparente. En outre les bullae sont moins bien limitées. Cet ensemble constitue ce que l'on peut appeler le complexe H. avenae dont nous avons déjà parlé plus haut et qu'il serait utile d'étudier taxonomiquement avec davantage de précision.

.../...

b - Origine des souches utilisées pour les tests.

La population d'H. avenae qui a été utilisée pour cette étude provient du Lauragais et plus spécialement de la région céréalière de Castelnaudary (Aude). L'ensemble du matériel a été recueilli au cours de diverses tournées de prospection, conservé et multiplié dans des parcelles de la Station de Nématologie d'Antibes.

Les populations provenant de différentes zones céréalières françaises ont été également étudiées afin de mieux connaître la distribution et les caractères biologiques de cette espèce en France.

2 - Plantes ayant servi à cette étude.

a - Enumération des plantes utilisées.

H. avenae attaquant uniquement les graminées, nous avons utilisé dans nos recherches plusieurs variétés de blé, d'orge, de sorgho et de maïs. Nos travaux ont porté principalement sur le blé car il semble être l'hôte préféré par la population présente dans la région de Castelnaudary.

Les graines proviennent, d'une part, de la Station de Génétique des Céréales de l'Ecole Nationale Supérieure d'Agriculture de Montpellier et, d'autre part, du service technique de la Coopérative Agricole Lauragaise. Les variétés testées présentent toutes un intérêt agronomique actuel ou futur. En outre, les semences de certaines variétés nous ont été fournies par le Dr S. ANDERSEN (Danemark). Ces variétés sont utilisées pour la caractérisation des biotypes d'H. avenae, à savoir : orges variétés : Alfa, Drost, Herts, Maja et nr 191 et l'avoine var. : San II.

Voici la liste complète des céréales utilisées :

Blés	Orges	Avoines	Maïs	Sorgho
Bidi 17	Ager	Blanche Neige	Ia. 4417	NK-120
Capitole	Alfa	Prieuré	Illinois	
Dr Mazet	Arès	Rouge d'Algérie	Pionner 371	
Etoile de Choisy	Drost	Sunn II	Pionner 377-A	
I.N.R.A. 888	Grignon	Avena brevis ROTH	Pionner 388	
I.N.R.A. 923	G.V. 380			
Languedoc	Herts	A. fatua L.		
L.D. 308	Ingrid	A. ludoviciana DURIEU		
Magali	Maja	A. sterilis L.		
Moisson	n.r. 191 - Hordeum pallidum Kck			
Montferrier	53-5			
Triticum turgidum L.				

.../...

Enfin, plusieurs graminées spontanées et fourragères ont été également testées pour apprécier en détail la gamme d'hôtes du Nématode. Ces graines, qui nous ont été fournies par M. CHEVIN de la Station Centrale de Zoologie Agricole de Versailles, provenaient du Museum National d'Histoire Naturelle. En voici la liste par ordre alphabétique :

- Agrostis gigantea ROTH ; A. tenuis ; Agropyron caninum BEAUV. ; Aegilops triuncialis L. ; Arrhenatherum elatius ; A. avenaceum ; Beckmannia crucaeformis HOST. ; Bromus arvensis L. ; B. commutatus SCHRAD ; B. macrostachys DESF. ; B. rubens L. ; B. rigidus ROTH ; Dactylis glomerata var. Praerial. ; Elymus candensis L. ; E. caput-ledusae L. ; E. europaeus L. ; E. glaucus REGEL ; E. virginicus L. ; Festuca KENTUCKY ; F. ovina ; F. pratensis ; F. rubra ; Koeleria gracilis PERS. ; K. valiesiana GAUD. ; Leptutus cylindricus TRIN. ; Lolium Pacey ; L. perenne L. ; Luzula nivea DC. ; Melica pyramidalis LAMB. ; Muehlenbergia mexicana TRIN. ; Orysopsis miliacea ASCH SCHW ; Paspalum digitaria BOIV. ; Panicum miliaceum L. ; Phalaris minor RETZ ; Pheum pratense ; Poa caesia SM. ; P. nemoralis L. ; P. palustris L. ; P. pratensis L. ; Polypogon monspeliensis DESF. ; Sesleria cylindrica DC. ; Seraria viridis BEAUV. ; Stipa pennata L. ; Trisetum paniceum PERS.

b - Stade végétatif des plants utilisés dans cette étude

C'est au début de son développement que le végétal est le plus sensible au Nématode. A ce moment, la plante émet ses premières racines qui tendent à s'installer dans les zones les plus profondes du sol. Une attaque d'H. avenae, à ce moment, peut arrêter la croissance distale des jeunes radicelles, ce qui provoque une prolifération de celles-ci en surface. Ceci déséquilibre le métabolisme de la plante et entraîne un ralentissement général du développement parfois souligné par une coloration rougeâtre des premières feuilles. Les attaques plus tardives sont moins sévères bien que les symptômes sur les racines et le feuillage soient analogues. Pour cette raison, nous nous sommes servis essentiellement au laboratoire de jeunes plantes de 8 cm de hauteur environ, parvenues au stade 3 feuilles.

B - TECHNIQUES ET METHODES

1 - Techniques d'extraction et modifications apportées aux méthodes classiques.

a - Conservation et préparation du matériel collecté par échantillonnage.

- Quand il s'agit d'évaluer le niveau de la population d'un champ par le nombre de kystes présents, le sol est collecté au hasard, à l'aide d'une gouge, par petites quantités, en divers points (au moins 25) à concurrence de 1 kg. L'échantillon est alors transporté dand des sacs en matière plastique

munis d'une étiquette numérotée indiquant la localité, la date, les cultures en place et précédentes, etc...

Au laboratoire, la terre prélevée est placée à l'ombre dans des cuvettes métalliques de manière à sécher lentement et complètement ; de plus, elle est retournée de temps à autre pour faciliter l'évacuation progressive de l'humidité (GOODEY, 1963b).

Pour le matériel destiné à l'expérimentation nécessitant des kystes en parfait état, nous avons rassemblé de grandes quantités de sol (sacs de 50 kg environ) recueillies dans les terrains les plus infestés en prenant soin d'éliminer les couches trop superficielles car H. avenae, selon WINSLOW (1955) et HESLING (1956) est très sensible à la dessication. Dans ce cas, nous avons utilisé la technique de HESLING qui recommande la dessication lente et partielle de manière à ce que les kystes puissent flotter sans être desséchés. Le sol est trié sur un tamis de maçon (de 4 mm d'entre-mailles) pour éliminer les gros matériaux, émietter les mottes et permettre ainsi une déshydratation plus homogène. La terre, ainsi amassée, est remuée plusieurs fois par jour. On considère le point de déshydratation comme suffisant lorsqu'en serrant une poignée de terre on n'obtient plus d'agglomération en motte des particules. Cette technique s'est révélée satisfaisante d'autant plus que DUGGAN (1960) a montré que la sensibilité d'H. avenae à la dessication était bien différente au laboratoire et dans la nature. D'après cet auteur, les kystes isolés et desséchés artificiellement perdent complètement leur faculté d'éclosion, par contre mélangés à la terre et séchés à l'air, ils demeurent viables pendant 6 mois environ. La rapidité de dessication est probablement à l'origine de la différence constatée.

Dans les deux cas, c'est-à-dire l'évaluation de la population et l'obtention massive de matériel, l'extraction des kystes a été faite par la méthode de flottation qui sera décrite plus loin.

- Lorsque l'on désire estimer l'importance relative des stades actifs d'H. avenae (larves infestantes et mâles), les échantillons sont prélevés dans la rhizosphère de la plante-hôte ou en l'absence de végétation au niveau occupé par les racines de la culture précédente, compte-tenu, dans la mesure du possible des procédés culturaux qui sont intervenus entre-temps.

Ces échantillons conservés à l'abri de toute dessication dans les sacs en matière plastique sont placés, dès l'arrivée au laboratoire, dans une chambre froide maintenue à 7°C pour arrêter toute évolution ultérieure de la population dans l'attente de l'analyse.

b - Séparation des kystes et des oeufs.

- Les techniques d'extraction pour le genre Heterodera sont tout à-fait particulières, puisqu'il s'agit de Nématodes formant des kystes lourds à l'état frais. Pour l'évaluation du nombre de kystes à partir du sol

.../...

complètement desséché, nous avons utilisé la technique de FENWICK (1940), basée sur la flottaison du kyste plus ou moins sec. Pour cela, on se sert d'un appareil qui porte le nom de cet auteur et qui a quelque peu été modifié par OOSTENBRINK en 1950. Il s'agit d'un récipient en forme de cône tronqué (voir figure 4) dont le fond est constitué par un plan oblique incliné vers un orifice permettant la vidange. A la partie supérieure est aménagée une déverse qui, munie d'une gouttière périphérique, oriente l'écoulement lorsque le récipient déborde. Le sol contenant les kystes est amené à l'intérieur de l'appareil par l'embout d'un entonnoir qui pénètre en partie dans l'eau remplissant le système. L'entonnoir est maintenu au-dessus de l'orifice supérieur par trois tiges métalliques (voir figure). Cet appareil a été conçu pour trier des échantillons de 50 à 200 g., mais nous l'avons parfois utilisé de manière satisfaisante avec des échantillons allant jusqu'au kg. sans en modifier le rendement.

Le mode opératoire est le suivant : le récipient est rempli préalablement d'eau et on pose la terre à analyser sur une passoire ménagère (1 mm entre les mailles) que l'on emboite dans l'entonnoir. La passoire retient les gros éléments minéraux et végétaux, tandis que les particules fines et les kystes sont chassés par un jet d'eau et descendent dans le Fenwick proprement dit.

Les argiles, les débris organiques fins et les kystes (éléments légers) flottent sous l'impulsion du courant ascendant et sont entraînés dans la gouttière par le débordement de la suspension qui s'écoule sur un tamis de 250 microns entre les mailles qui recueille seulement les kystes et certains débris. Si le débit de l'eau a été réglé de façon convenable, les éléments moyens (sables, etc...) se sédimentent dans le fond du Fenwick et sont ainsi éliminés.

La partie de la suspension retenue sur le tamis de 250 microns est rassemblée dans un récipient dont les parois sont tapissées par un papier buvard. Les particules légères et les kystes qui surnagent vont adhérer au papier buvard. On retire soigneusement ce dernier qui est alors examiné à la loupe binoculaire et les kystes sont récoltés à l'aide d'un pinceau, Cette méthode, permettant de séparer les kystes des débris, a été mise au point par BUHR en 1954.

Cette technique d'extraction avec l'appareil de Fenwick, nous a toujours donné de bons résultats, lors des analyses quantitatives et qualitatives des échantillons de sols infestés et, d'après FIDLER, CHURCH et SOUTHEY (1959), l'efficacité de l'appareil de Fenwick peut être considérée comme satisfaisante bien qu'il y ait une perte de kystes d'environ 6 % (allant exceptionnellement jusquà 20 %).

- En dehors de son utilité pour l'évaluation des niveaux de population d'H. avenae dans les champs infestés et pour connaître la dispersion

géographique du parasite, cette technique ne répondait pas exactement à tous nos besoins. En effet, nos expérimentations multiples nécessitent un matériel à la fois frais, c'est-à-dire en bon état physiologique, et très abondant. Comme cela a déjà été indiqué, nous avons traité le sol selon la mathode de HESLING (1956), c'est-à-dire que nous l'avons seulement conduit à une dessication partielle. Ensuite, lors de la séparation, nous avons appliqué une technique dérivée du système de Fenwick. Pour cela, nous avons apporté quelques modifications à l'appareil : en premier lieu, nous avons éliminé la passoire dans l'entonnoir de réception et nous avons raccourci l'embout de celui-ci de telle façon que son extrêmité ne pénètre pas dans l'eau lorsque le Fenwick est plein. Le sol de l'échantillon tombe directement à la surface de l'eau contenue dans l'appareil sans être préalablement humecté. Le conduit de l'entonnoir a été rendu irrégulier par une spirale de caoutchouc de manière à provoquer une chute dispersée des particules. Pour évacuer dans la gouttière les débris et les kystes qui flottent, nous avons apporté à la base du Fenwick par l'orifice de vidange un courant d'eau ascendant, ce qui constitue une différence nette avec le système précédemment décrit, mais rappelle celui de l'élutriateur de OOSTENBRINK (1954), initialement conçu pour les Nématodes filiformes, mais recommandé aussi par le même auteur (1960a) et légèrement modifié par KORT (1960) pour séparer les kystes des échantillons de sol sec ou humide, (Fig. 4).

Ce procédé nous a permis d'accélérer les séparations et surtout de récupérer une quantité de kystes supérieure de 10 à 20 % de celle obtenue par la technique classique. Cette supériorité de rendement est dûe vraisemblablement au fait que le contact du kyste incomplètement desséché avec l'eau est réduit au minimum. A ce sujet, il faut souligner que l'imbibition du kyste d'H. avenae plongé dans l'eau est assez rapide, surtout chez les kystes nouveaux qui sont justement ceux qui nous intéressent le plus. Une technique d'extraction des kystes à partir de sol humide a été décrite par SEINHORST (1964), mais nous ne l'avons jamais utilisée car elle demande un appareillage spécial et compliqué.

- Technique d'élimination des débris organiques.

Après ces séparations massives, les kystes sont encore mélés à une grande quantité de débris organiques et de graines de toutes sortes, une opération secondaire est donc nécessaire. Quand il s'agit d'espèces d'Heterodera supportant une dessication totale, ceci ne présente pas de difficultés majeures. Les kystes secs et sphériques sont séparés mécaniquement par roulement, grâce à leur forme, des autres particules auxquelles ils sont mélangés (COOPER, 1955b ; REID, 1955 ; GOODEY, 1963b).

Dans le cas présent, nous avons utilisé l'élutriateur d'HESLING

.../...

(1956), basé sur la propriété d'imbibition rapide des kystes de H. avenae. Les kystes s'alourdissent par un séjour de 24 h. dans l'eau et sont ensuite placés à l'intérieur de la colonne de verre qui constitue la partie essentielle de l'appareil ; ils sédimentent en quelques minutes, alors que les débris et les kystes vides sont entraînés à l'extérieur par un léger courant d'eau ascendant. Ce procédé est efficace, mais demande un certain temps car la masse de l'échantillon doit être séparée en petites portions traitées successivement.

Nous avons amélioré le rendement de l'opération en plaçant des quantités importantes de matériel brut dans un Erlenmeyer (de deux litres) rempli d'eau. Cet Erlenmeyer est ensuite retourné, l'embout plongeant dans l'eau, au-dessus de la colonne (on procède un peu de la même manière avec l'élutriateur de SEINHORST (1956) pour les Nématodes filiformes). La majeure partie des débris reste dans l'Erlenmeyer et facilite le travail de l'appareil (voir schéma). De plus, le fait qu'il y ait moins de particules organiques à éliminer à l'intérieur de la colonne proprement dite, réduit les risques d'entraînement des kystes avant leur chute.

- Purification définitive du matériel.

Le concentré de kystes ayant sédimenté dans la partie inférieure de l'élutriateur de HESLING est récolté sur un tamis approprié. L'extrait doit alors être purifié définitivement en éliminant les oeufs d'Arthropodes, certaines graines et les particules minérales dont le poids et la forme avoisinent ceux des kystes. Une partie des déchets est éliminée à l'aide de tamis de différentes ouvertures, du même type que ceux employés dans la technique élaborée par COBB et citée par GOODEY (1963b), pour les Nématodes filiformes. Le même principe est utilisé par WINSLOW (1955b) pour l'élaboration d'un appareil destiné à concentrer les kystes d'Heterodera.

Généralement la purification définitive s'effectue par récolte, kyste par kyste, au pinceau ; ni l'aspirateur à sec d'HESLING (1952), ni le même modifié par BIJLOO (1954) ne peuvent être utilisés, car en raison de la sensibilité de H. avenae à la dessication, les kystes sont toujours gardés dans l'eau. Pour éviter un travail si long et fastidieux, nous avons conçu un petit aspirateur "micropipette à succion constante". Celui-ci est constitué par une cellule (C) de 50 cc, capacité dans laquelle nous abaissons la pression à l'aide d'une pompe à vide (D) de faible puissance. Cette cellule est en relation avec un tube à essai constituant le récepteur (R) de kystes. La liaison entre ces deux pièces est commandée par une pince de Mohr à lames parallèles qui règle l'aspiration. Un tube souple en plastique de 4 mm de diamètre sortant du récepteur à kystes muni à une de ses extrémités d'une micropipette (A), assure la prise et le transport des kystes jusqu'au tube à essai (voir schéma 5).

.../...

- Indication définitive du matériel.

D'après la figure, on remarque que le tube (a) arrive profondément dans le récepteur (R) et s'incurve à son extrémité pour faciliter le dépôt du matériel en évitant toute turbulence. Si une accumulation d'eau vient à se produire, elle est éliminée par le tube (b) dont l'ouverture dirigée vers le haut du récepteur empêche toute aspiration brutale.

Une cellule intercalaire (B) peut être adjointe entre le récepteur (R) et la chambre à vide (C) dans le but de recueillir le surplus de (R) lors d'une utilisation prolongée de l'appareil.

Le fonctionnement de l'aspirateur à micropipette et à succion constante est le suivant :

- dans une première phase, on ferme le robinet (r) pour isoler la chambre (C) et en abaisser la pression à l'aide de la pompe à vide (D) ;
- une fois cette opération réalisée, on ouvre lentement le robinet (r) en réglant progressivement l'aspiration à l'ouverture de la micropipette ;
- on place dans la phase finale le matériel à trier sous la loupe binoculaire et avec la micropipette on choisit sélectivement les kystes qui s'accumuleront dans la cellule de réception (R). La conservation momentanée est assurée par le tube récepteur, qui est interchangeable, à une température de 2° C ;
- de la même manière cet aspirateur a servi à toutes les numérotations de larves avec le même succès. Dans ce cas, la micropipette à kystes était remplacée par une autre de plus faible ouverture (pipette capillaire).

c - Récolte et dénombrement des divers stades.

- Dénombrement des oeufs.

Le nombre des oeufs renfermés dans les kystes est très variable, ce qui a rendu obligatoire leur dénombrement précis dans tous les cas. Lorsqu'il s'agit de connaître la population théorique en oeufs, nous avons employé la technique classique consistant à déchirer les kystes séparés par le Fenwick dans autant de millilitres d'eau qu'on a pris de kystes. La suspension d'oeufs est homogénéisée et puis une certaine quantité est prise au hasard avec une pipette et placée dans une lame à compter de PETERS (1952). La capacité de la lame étant de 1cc, le total des oeufs trouvés correspond à la moyenne pour un kyste. Nous avons utilisé aussi avec de bons résultats la chambre multiple à compter de FENWICK (1951a).

Au cours de cette opération, on libère simultanément un certain nombre de larves (par éclatement du chorion d'oeufs embryonnés) dont il faudra également tenir compte ; ceci se produit surtout pour les kystes âgés. A ce sujet, d'après SHEPHERD (communication personnelle), l'âge du kyste intervient dans la précision de l'appréciation de son contenu ; en effet, chez les jeunes kystes la matrice secrétée par la femelle est encore fraîche et tend à agglomérer les oeufs, ce qui introduit un autre facteur de variation.

.../...

Pour diminuer les causes d'erreur dans l'évaluation des oeufs et larves, BIJLOO propose, en 1954, l'utilisation d'un appareil électrique pour homogénéiser les suspensions liquides du contenu des kystes avant de faire les comptages pour l'estimation de populations. Auparavant, PETERS et LEIPER (1940) avaient montré que la suspension d'oeufs du Nématode, Haemonchus contortus présente une distribution de POISSON dans la masse d'eau, on peut penser que les oeufs d'Heterodera suivent la même loi.

Nous avons analysé statistiquement des séries de moyennes du nombre des oeufs obtenues à partir de 1, 2, 3, 4, 5, comptages d'un cc. Les résultats nous ont montré que la moyenne de trois comptage donne déjà une appréciation suffisante du contenu de chaque kyste. Pour ce travail, nous avons utilisé des kystes d'environ dix mois d'âge et les résultats analysés statistiquement sont détaillés ci-après :

TABLEAU FINAL DE L'ETUDE SUR LA SUSPENSION D'OEUFS D'H. avenae

	Variance	Ecart type	Coefficient de variation	Erreur type de la moyenne	Moyenne
Nombre d'oeufs dans 1 ml	749,877	27,383	0,1044 %	8,659	262,1
Moyenne d'oeufs obtenus dans 2ml	735,17	27,114	0,1126 %	8,574	240,8
Moyenne d'oeufs obtenus dans 3 ml	94,470	9,719	0,0407 %	3,073	238,43
Moyenne d'oeufs obtenus dans 4 ml	123,50	11,113	0,0455 %	3,514	244,32
Moyenne d'oeufs obtenus dans 5ml	191,562	13,840	0,0568 %	4,376	243,36

Tous les auteurs sont d'accord pour estimer les populations en nombre d'oeufs par gramme de sol plutôt qu'en kystes par kilogramme. FENWICK (1942) avait déjà signalé que statistiquement le nombre des kystes est inadéquat pour donner une appréciation de l'infectivité d'une population d'Heterodera et que le nombre de larves est plus utile dans ce cas.

- Evaluation du nombre de larves mobiles.

La première mue ayant lieu dans l'oeuf, les larves qui s'échappent du kyste sont déjà du deuxième âge. Ce deuxième stade très mobile est le stade infectieux, c'est le seul avec le mâle adulte que l'on trouve libre dans le sol.

Comme nous l'avons déjà signalé, des échantillons de terre sont

.../...

prélevés dans la zone des racines afin de connaître la quantité de larves mobiles du 2ème stade présentes au moment du prélèvement. Ceci est nécessaire à certaines périodes de l'année, notamment en hiver et au début du printemps, époque de l'éclosion d'H. avenae dans le Lauragais.

Pour l'extraction de ces stades mobiles, nous employons la technique des seaux telle qu'elle a été récemment décrite par DALMASSO (1966). Ce procédé nous donne satisfaction à l'exception toutefois du stade mâle adulte pour lequel nous trouvons un moyen plus simple et plus efficace que nous décrivons plus loin. Les comptages sont encore effectués à l'aide de la lame de PETERS et directement au faible grossissement du microscope (x 60).

- Capture des stades larvaires sédentaires.

Après la pénétration de la larve du 2ème stade dans les tissus végétaux au niveau de la zone méristématique, située entre la coiffe et la région pillifère, le Nématode poursuit son développement de façon sédentaire. Il est indispensable pour l'examen précis des stades ultérieurs de dégager les larves en dilacérant les racines sous la loupe binoculaire. Le repérage de l'animal est facilité par une coloration globale à la fuschine acide dans le lactophénol selon la technique décrite par T. GOODEY (1937) et modifiée par Mc BETH, TAYLOR et SMITH (1941).

Voici la formule :

- Phénol cristallisé pur ..... 20 gr,
- Acide lactique..... 20 gr,
- Glycérine..... 40 gr,
- Eau distillée..... 20 cc,
- Fuschine acide..... 5 cc, d'une dilution de 1 gr de Fuschine acide pure dans 100 cc d'eau.

En début d'attaque, la mise en évidence des larves dans les tissus végétaux est délicate, par la suite, la présence du Nématode entraîne un léger renflement de la racine et même une fasciation de radicelles à partir du point de pénétration, qui facilite la recherche.

Ayant constaté que la fuschine acide bouillante détériore une partie du matériel, nous utilisons ce produit à froid. Lors de ces recherches, on peut également déceler par ce moyen l'existence de kystes en début de formation.

- Capture des mâles.

La récupération des mâles est obtenue en plaçant les plants infestés dans un verre à pied rempli d'eau, continuellement aérée par un aérateur, les mâles s'échappent progressivement des racines et sont récoltés périodiquement sur un tamis de 63 microns d'entre-mailles.

2 - Techniques d'études en conditions naturelles.

a - Echantillonnage.

- Cas des kystes (formes de résistance, source des infestations).

Nous avons déjà décrit la technique employée pour la récolte des échantillons destinés à l'étude des populations. Les prospections ont surtout été réalisées durant l'automne 1964 et 1965 car, à cette saison, l'activité dans la nature de H. avenae n'a pas encore débutée dans le Lauragais.

- Poids de l'échantillon.

Le problème du poids minimum et du mode de prélèvement de l'échantillon pour obtenir après analyse une estimation valable d'une population d'Heterodera a fait l'objet de multiples travaux en particulier de la part de FENWICK (1940, 1942, 1952a), ANSCOMBE (1950), PETERS (1951), JONES (1955) et HAGUE et HESLING (1959), surtout pour H. rostochiensis et H. schachtii.

Dans le cas d'H. avenae, nous avons entrepris une étude statistique pour préciser ce point dans un champ très infesté de Castelnaudary : nous avons prélevé, après quadrillage d'une surface de un hectare, dix gros échantillons (3 kg environ), chacun composé de 25 prises distinctes rassemblées au hasard. Au laboratoire, nous avons conduit séparément ces échantillons à une dessication totale et, après une homogénéisation mécanique, nous les avons subdivisés en lots de 50, 100, 250, 500 et 1.000 g. Ces lots ont été successivement analysée au moyen des techniques déjà décrites. L'analyse statistique a porté à la fois sur les kystes totaux, sur les kystes pleins et surtout sur la quantité "d'oeufs larves" par gramme de sol. L'analyse de variance (voir tableau), montre que l'examen d'un échantillon de 250 gr. suffit à l'appréciation de la population (dans les conditions énoncées ci-dessus). Au cas où l'on recherche une précision plus grande, il peut être nécessaire d'aller jusqu'au demi kilo.

RESULTAT DE L'ANALYSE DE VARIANCE POUR LE NOMBRE D'OEUFS PAR GR DE SOL

Poids de l'échantillon	Variance	Ecart type	Coefficient de variation	Erreur type de la moyenne.	Moyenne
50 g.	91,929	9,588	0,423 %	3,032	22,654
100 g.	51, 893	7,203	0,441 %	2,277	16,326
250 g.	13,246	3,639	0,227 %	1,150	15,968
500 g.	4,969	2,229	0,145 %	0,704	16,475
1.000 g.	3,688	1,929	0,120 %	0,607	16,477

.../...

Les analyses de variance se rapportant aux kystes totaux et aux kystes pleins donnent des conclusions identiques, mais nous ne les avons pas incluses dans le tableau, car en général on considère que le nombre "d'oeufs larves" par gramme est le meilleur critère pour estimer le niveau d'une population. Ce résultat est en accord avec les conclusions de FENWICK (1940 et 1942) qui signale que pour H. schachtii il n'est pas nécessaire d'examiner plus d'une demi livre de sol (232 g.) pour évaluer une infestation et surtout avec celles de FIDLER, CHURCH et SOUTHEY (1959) qui ont montré que pour les travaux de routine l'évaluation de l'infestation par H. avenae peut s'apprécier avec 200 g. de sol pris dans un échantillon de 2,5 à 5 kg prélevé au hasard en 25 points différents d'un champ donné.

Nous n'avons pas abordé l'étude du prélèvement de l'échantillon au champ, car ce chapitre nécessite à lui seul un travail hors de nos possibilités. Les facteurs suivants doivent, en effet, être pris en considération.

- Pour le milieu : la nature du sol, la nature et le mode de culture de la plante-hôte (espacement des lignes ou profondeur des labours par exemple), la période de l'année, etc...
- Pour la technique de prélèvement : nombre d'échantillons par unité de surface, nombre de prises individuelles devant constituer l'échantillon, poids de l'échantillon total (qui est distinct de la fraction de l'échantillon qu'il suffit d'analyser).
- Cas des stades immatures.

Pour l'étude qualitative de l'activité et de l'évolution biologique de l'espèce au cours de l'année, nous avons reçu hebdomadairement des échantillons (terre et, le cas échéant, de plants de blé) provenant d'un sol très infesté et néanmoins encore cultivé. En raison du but poursuivi, l'examen de ces échantillons fut immédiat et portait sur la recherche et la proportion des divers stades biologiques.

On éprouve de grandes difficultés pour évaluer quantitativement la population effectivement présente dans les racines. Celles-ci doivent être dilacérées millimètre par millimètre et il existe des différences considérables et imprévisibles selon le point choisi dans le système radiculaire d'une plante et entre les plantes elles-mêmes.

b - Réalisation des essais parcellaires.

Une contamination artificielle contrôlée s'est révélée indispensable pour tester le degré de résistance variétale des hôtes. L'inoculum utilisé pour les infestations artificielles est multiplié à la Station de Nématologie pendant deux ans dans des parcelles de plein air désinfectées au préalable au

.../...

moyen d'un fumigant à base de dichloropropène (Fig. 6). Une récupération des kystes ainsi formés est effectuée par la technique de Fenwick modifiée (voir plus haut). Ceci est rendu obligatoire du fait de la multiplication inévitable dans le sol des parcelles, d'autres Nématodes phytophages qui risquent d'ajouter leur effet à celui de l'espèce étudiée.

Les tests concernant le comportement variétal sont mis en place (Fig. 7) dans des coffres de 4 m. de long sur 2 m. de large. Ces coffres sont remplis sur 30 cm. avec un mélange désinfecté de terre et sable en égales proportions. Chaque coffre est divisé en deux dans le sens de la longueur par des bandes en matière plastique pénétrant jusqu'à 40 cm. environ à l'intérieur du sol dans le but d'isoler les zones infestées des zones témoins. De la sorte, un seul côté du coffre est contaminé à raison de 10.000 oeufs par kilogramme de mélange de remplissage, ce qui constitue une population d'un niveau moyen. Les plants des différentes espèces et variétés préalablement semées en terrine sont repiqués en lignes transversales, ce qui nous permet de suivre le développement du végétal dans le témoin et dans la partie malade. Pour chaque variété, nous installons trois répétitions sous formes de blocs dans lesquels les lignes correspondant à chaque variété testée sont distribuées au hasard. Le contrôle de l'activité du Nématode est suivi sur la bordure des coffres ensemencés sur toute leur périphérie avec la variété extrêmement sensible, de blé : Bidi 17

La réponse des plants à l'attaque de H. avenae est estimée d'après les critères suivants :

- Hauteur, poids vert et poids sec de la plante, nombre de feuilles et d'entre-noeuds, tallage et surtout, importance de la production d'épis (nombre, taille, nombre de grains et poids).

Nous avons, en outre, suivi chaque semaine l'activité biologique d'H. avenae en fonction de la température, dans des coffres de multiplication infestés depuis plusieurs années et semés en blé, pour compléter les renseignements recueillis simultanément à partir des échantillons provenant de Castelnaudary. La température est relevée à l'aide d'un thermomètre enregistreur à sondes placé à 25 cm de profondeur.

3 - Etude au laboratoire.

a - Méthodes d'élevage en milieu semi-aseptique, (conditions de température, éclairage, etc...).

H. avenae étant un parasite obligatoire, nous sommes tenus d'utiliser un hôte : le blé dur "Bidi 17", très sensible et de croissance rapide est choisi. Le Nématode est maintenu et élevé au laboratoire en condition aseptique, au moins au départ. Les graines sont désinfectées à l'hypochlorite de sodium à 2 % et mises à germer dans des boîtes de Pétri sur du sable stérile humide et finalement transplantées dans des pots contenant le même

.../...

sable (sable siliceux calibré de la Valmasque n°5, grains ayant de 0,5 à 0,7 mm). Les pots sont désinfectés à l'autoclave et le sable trempé dans de l'acide chlorhydrique technique pendant quelques heures, puis rincé abondamment pour éliminer tout résidu. La nutrition des plantes est assurée par un arrosage tous les deux jours de solution nutritive de Knop.

Nous nous inspirons de GAUTHERET (1959), mais nous doublons la concentration des sels indiquée par cet auteur (qui diluait de moitié la solution initiale de Knop). La formule que nous utilisons est donc la suivante :

- Eau distillée..... 1.000 cm3
- Nitrate de calcium $(NO_3)^2Ca, 4H_2O$..... 1,00 gr
- Nitrate de potassium : $NO_3 K$..... 0,25 gr
- Sulfate de magnésium : $SO_4 Mg, 7 H_2 O$..... 0,25 gr
- Phosphate acide de potassium : $PO_4 H_2 K$..... 0,25 gr
- Traces Chlorure ferrique.

Cette solution nutritive n'a pas permis aux plants d'atteindre leur taille normale. Cependant, le parasite a pu s'y installer et s'y développer de façon complète.

Dans ces essais nous avons, dans la mesure du possible, essayé de contrôler la température et l'humidité. La température moyenne choisie dans la plupart de nos essais avoisine 20°C. et l'humidité du sable est maintenue à saturation. D'ailleurs, après pénétration de la larve du 2ème stade dans les tissus végétaux, pénétration qui s'effectue dans un délai de quelques jours, le Nématode ne semble plus affecté par la variation du taux d'humidité du sol. Les larves infectieuses sont recueillies à partir de kystes placés dans des conditions propices à l'évolution. Le stade infectieux étant le seul à la fois mobile et filiforme ne pose pas de problème de reconnaissance lors de sa sortie des kystes. Ces larves sont toujours utilisées dans les douze heures qui suivent leur éclosion car, d'après DROPKIN (1957), leur infectivité diminue avec le temps après l'éclosion, La quantité d'inoculum est déterminée soit à la lame de Peters, soit à la micropipette à succion. Malheureusement, nous ne disposons de ces larves qu'à certaines périodes de l'année correspondant aux périodes d'activité d'H. avenae dans la nature et pour cela le temps durant lequel nos recherches sont possibles est limité à l'hiver et au printemps. Il faut signaler que l'obtention de larves infectieuses directement à partir du sol ne suffit pas à nos besoins et que de plus on risque de rencontrer parmi elles des individus éclos depuis déjà longtemps. Le nombre de larves nécessaire est déposé à l'aide d'un compte-gouttes gradué entre les plants mis en place cinq jours auparavant.

.../...

b - Modes d'appréciation de l'attaque et du dégât dans les expérimentations.

Il n'existe pas de méthode directe permettant d'apprécier le degré d'attaque d'H. avenae comme c'est par exemple le cas avec le genre Meloidogyne où la formation de galles plus ou moins grosses et plus ou moins nombreuses témoigne du degré de contamination. Ici nos observations portent, d'une part sur l'aspect de la partie aérienne de la plante, d'autre part, sur la prolifération du chevelu radiculaire. Nous classons les variétés testées en quatre catégories : non attaquée (-), peu attaquée (+), attaquée (++) et fortement attaquée (+++). De plus, il est tenu compte du taux de prolifération de Nématode et, pour cela, nous élevons le Nématode dans des pots en serre (Fig. 8). Les plants utilisés sont inoculés pour un nombre connu de kystes mélangés au substrat composé de 50 % de terre arable et de 50 % de sable (selon une des techniques préconisées par M.C. KERMA et WINSLOW en 1963). Les végétaux sont maintenus en végétation aussi longtemps que possible, puis les kystes nouvellement formés sont extraits selon la méthode classique de Fenwick et le taux de prolifération est calculé d'après les formules de HESLING (1957) :

- Taux de multiplication des kystes $\left(\frac{\text{kystes totaux obtenus à la fin de la saison}}{\text{nombre de kystes à l'origine}}\right)$

- Taux de multiplication des oeufs $\left(\frac{\text{total des oeufs obtenus à la fin de la saison}}{\text{nombre d'oeufs à l'origine}}\right)$

La méthode est également utilisée pour analyser les dégâts et les symptômes en végétation de la variété de blé "Bidi 17" soumise à des taux d'inoculum différents. Dans ce cas, nous avons précisé les relations entre d'une part :

- l'importance de l'inoculum : (en kyste)
  (en oeuf)
- le degré de multiplication : (en kyste)
  (en oeuf)
- l'infestation en fin de végétation (en kyste)
  (en oeuf)

et d'autre part :

- la vigueur et hauteur des plants,
- le poids de matières vertes et sèches,
- le nombre d'épis et de grains,
- l'aspect des dégâts sur les racines, etc...

La gamme d'hôtes et la sensibilité des variétés de céréales sont abordés expérimentalement en cultivant des plants en pots contenant du sol infesté avec 20 larves-oeufs par gramme. A la fin de l'essai la présence des kystes sur les racines est décelée à l'oeil nu, comme cela est préconisé par SOUTHEY (1956), technique qui est d'ailleurs courante pour des études

semblables. D'autres chercheurs tels qu'ANDERSEN (1963) et HAKAUSON et VIDEGARD (1965) ont préconisé l'usage de récipients de plusieurs types, pour cette sorte d'étude, (Fig. 9).

c - Méthodes d'étude de la morphologie et du développement du Nématode.

L'étude détaillée de la morphologie d'H. avenae nécessite de disposer de séries de populations d'âges différents de manière à pouvoir suivre avec précision les transformations tant morphologiques qu'anatomiques subies par l'animal au cours de son développement. Celles-ci sont obtenues par la méthode de culture en milieu semi-aseptique décrite plus haut.

A partir de l'inoculation des plants, nous dégageons la totalité des systèmes radiculaires contenus dans trois pots (avec chacun trois plantes) et les racines lavées sont aussitôt examinées à la loupe binoculaire, puis dilacérées sans coloration. Les observations microscopiques sont ainsi faites d'abord sur le matériel vivant, ce qui est toujours préférable, l'animal étant placé dans de l'eau distillée au fond d'une lame à concavité.

En ce qui concerne le développement des mâles qui subit au stade préadulte une véritable métamorphose, les observations sont effectuées durant un laps de temps d'environ cinq jours sur des spécimens conservés vivants dans de l'eau distillée renouvelée plusieurs fois par jour.

L'embryogénèse est étudiée dans des femelles d'âge différent, fécondées et dilacérées dans de l'eau. Le détail de l'évolution est suivi sur un même oeuf (placé dans une solution de Ringer fréquemment renouvelée) observé chaque demi-heure durant plusieurs jours. Des clichés photographiques sont réalisés à cette occasion.

Pour toutes les études morphologiques, après l'examen sur le vivant, une partie du matériel est montée en préparations définitives après fixation au FA 4/10 (fixateur comportant 10 % de formol à 40 % et 10 % d'acide acétique) en utilisant la méthode rapide à la glycérine décrite par SEINHORST en 1959.

Ces techniques ne permettant pas toujours d'avoir des préparations de qualité parfaite (notamment chez le stade préadulte mâle), nous avons pu toutefois, en utilisant de nombreux montages, réaliser les dessins et mensurations nécessaires.

Les figures définitives sont dessinées sur papier Kodatrace après dessin à la chambre claire complétés, pour les détails anatomiques plus fins, par des observations aux forts grossissements du microscope (X 1125).

Les séries de microphotographies illustrant les diverses phases de développement d'Heterodera avenae sont réalisées au moyen de l'équipement de marque Leitz, Orthomat, placé sur un microscope Ortholux. Les résultats, aussi bien en lumière normale qu'en contraste de phase ou qu'en fond noir (condenseur de Heine utilisé dans ces deux derniers cas), sont très satisfaisants. Cet équipement à permis d'obtenir également des clichés en couleurs.

d - Techniques particulières.

- Technique permettant l'identification précise des kystes d'Heterodera.

L'identification du genre est basée sur la structure et la morphologie du cône vulvaire. L'observation du cône nécessite la dissection de la partie périnéale de l'animal selon la technique décrite par COOPER (1955c).

La section doit être transversale au niveau du 1/3 postérieur du kyste, la calotte obtenue est soigneusement nettoyée pour éliminer les oeufs et les résidus d'organes internes (à l'exception du vagin, du sous-pont et des bullae). La paroi est éclaircie par trempage dans de l'eau oxygénée à 40 volumes pendant quelques minutes (temps variant selon l'épaisseur du tégument), puis le fragment de kyste est passé à l'alcool absolu pour éliminer les traces d'eau. Après désinfection dans l'essence de girofle, celui-ci est monté entre lame et lamelle dans du baume du Canada. Les cônes vulvaires doivent être disposés de façon à être vus de profil ou à donner une vue horizontale du sommet pour permettre les diverses observations nécessaires à l'identification (voir par ailleurs).

- Techniques relatives aux relations morphométriques entre le kyste et l'oeuf et entre l'oeuf et la larve.

Un grand nombre de mensurations de kystes, d'oeufs et de larves sont rassemblés pour permettre une analyse statistique corrélative. Les diamètres moyens équatoriaux et longitudinaux des kystes sont mesurés avec un micromètre oculaire, à la loupe binoculaire. Par contre, les mensurations d'oeufs et de larves (après écrasement de chaque kyste) sont faites au microscope d'après les recommandations de FRANKLIN (1940a) et de FENWICK et FRANKLIN (1942).

Nous mesurons 100 kystes au total et pour chaque kyste 10 oeufs et 10 larves infectieuses. L'analyse statistique effectuée au laboratoire de biométrie du C.N.R.A. de Versailles permet de déterminer les corrélations entre les différentes mesures.

- Techniques particulières utilisées pour l'étude de la parthénogénèse.

Nous remarquons que, placées dans l'eau, les larves infectieuses se montrent incapables de nager et de pénétrer dans les racines de l'hôte. Par analogie avec cette observation, nous pensons que le mâle, qui est également une forme mobile, peut être incapable de se diriger normalement vers les femelles en milieu aquatique et ceci peut se vérifier en réalisant un élevage d'H. avenae sur des plantes cultivées en milieu liquide au moins pendant la période de sortie des mâles. Ceci ne doit pas avoir de conséquence sur les femelles, car on sait qu'après sa pénétration dans les tissus végétaux au deuxième stade larvaire, ce Nématode n'est plus affecté par les caractères physiques et hygrométriques du milieu extérieur dans la mesure où ils n'altèrent pas notablement la plante-hôte.

.../...

Pour permettre aux larves de pénétrer, nous semons du blé dur "Bidi 17" (préalablement désinfecté) dans du sable selon les techniques habituelles. La contamination est effectuée une semaine plus tard avec 300 larves infectieuses écloses depuis huit heures. Après un délai d'une semaine qui peut être considéré comme suffisant pour permettre la pénétration des larves, les racines sont dégagées soigneusement du sable, (DROPKIN, 1957) considère à ce sujet que la quasi totalité de l'invasion se fait en deux jours dans le cas d'H. rostochiensis. Les plantes sont alors placées dans des bêchers de 600 cc, remplis de solution nutritive de Knop. Des rondelles de liège de 7 cm de diamètre et 3 mm d'épaisseur, dans lesquelles s'insèrent les tiges des plantes, permettent la flottaison du système aérien et évitent que les racines n'affleurent le fond. L'aération du milieu est assurée par un aérateur d'aquarium. Le débit d'air venant du fond est réglé de façon à éviter une turbulence trop violente. Les parois des bêchers sont obscurcies par des cylindres de papier Canson noir et le flotteur de liège évite en partie la pénétration de la lumière par le haut. En effet, bien que WINSLOW (1955a) montre que la lumière semble ne pas gêner l'éclosion d'H. avenae, il reste possible qu'elle affecte son développement. Ceci nous permet de déterminer le nombre de femelles et de mâles respectivement formés et surtout d'étudier le comportement des femelles non fécondées. Les mâles tombent directement sur le fond du récipient au fur et à mesure de leur sortie du végétal (obligatoire à la fin de leur développement) et sont recueillis deux fois par semaine sur un tamis de 63 microns d'entre-mailles.

L'influence du milieu liquide sur la femelle est précisée par un essai plus complet réalisé de la manière suivante : un lot de plantes infestées de la même manière que précédemment est divisé en quatre séries (de cinq pots avec trois plantes par pots) placées dans des conditions de culture différentes :

- (1) - Développement total dans du sable,
- (2) - Développement dans du sable jusqu'à la fin théorique de la formation des mâles (donc féc ndation des femelles), puis plantes placées en solution nutritive pure,
- (3) - Développement en milieu liquide jusqu'à la fin de la formation des mâles (donc sans fécondation des femelles), le végétal étant alors placé à nouveau dans du sable,
- (4) - Développement constamment en milieu liquide (après la pénétration des larves).

Les femelles d'H. avenae obtenues dans les différentes séries sont mesurées et observées superficiellement à la loupe binoculaire, puis elles sont déchirées et leur appareil génital est examiné minutieusement au micros cope.

Cette technique très efficace est beaucoup plus simple que celle employée par la plupart des auteurs dans l'étude de la parthénogénèse chez d'autres espèces d'Heterodera. Ceux-ci infestent une plante au moyen d'une larve unique et il observent plus tard les femelles ainsi formées en l'absence de mâle. ANDERSEN (1961 et 1965), procède de même lors de ses recherches sur la parthénogénèse et le comportement génétique des biotypes d'H. avenae.

- Techniques utilisées pour l'étude de la diapause.

L'existence d'une véritable diapause au stade d'oeuf embryonné, enfermé dans le kyste ayant été constatée chez Heterodera avenae, une part importante de nos recherches est consacrée à l'étude de ce phénomène.

On tente de rompre cette diapause en faisant agir divers facteurs chimiques, ou physiques, tels le trempage dans de nombreuses substances ou mélange de substances, la conservation dans différents substrats ou la température.

Au début, dans chaque série d'expériences, une partie des kystes utilisés est préalablement traitée à l'eau oxygénée pour obtenir des oeufs désinfectés ; l'autre partie est employée telle quelle. Le trempage des kystes dans l'eau oxygénée à 20 volumes, dure cinq heures, puis est suivi de nombreux lavages dans l'eau stérile. Ce temps de désinfection est préconisé par FENWICK (1956) qui signale, en outre, une légère action stimulante sur l'éclosion des oeufs d'H. rostochiensis.C'est d'ailleurs pour ces propriétés stimulantes plutôt que désinfectantes que nous essayons ce procédé sur H. avenae (FENWICK l'a utilisé directement sur des oeufs et nous sur des kystes), mais nous l'abandonnons ensuite, car il se révèle apparemment peu efficace et, de plus, il entraîne une perte considérable de matériel par suite du déchirement des kystes sous l'effet de l'eau oxygénée.

Au cours des tests, le matériel est placé, soit dans des verres de montre, soit dans des lames à concavités multiples. Le tout est conservé dans des boites de Pétri ou dans des récipients en polystyrène pour éviter la dessication. Chaque lot est examiné périodiquement à la loupe bionculaire ; les larves écloses sont recueillies et le milieu dans lequel sont placés les kystes est renouvelé, (Fig. 10).

Pour étudier l'influence de l'oxygénation, on utilise des tamis de 9 cm de diamètre réalisés exclusivement en matière plastique (cercle de polyéthylène et toile de nylon), sur chacun desquels est disposé un papier filtre supportant un milieu solide (terre ou sable). En plus, nous utilisons des milieux gélosés, coulés dans des boites de Pétri préalablement stérilisées.

Pour tester l'effet des sécrétions végétales sur l'éclosion, nous plaçons les kystes soit au contact direct des racines vivantes (Fig. 11), soit dans des solutions contenant les diffusions radiculaires ou les broyats

.../...

de différentes parties de plantes. Pour ces essais, on utilise plusieurs espèces de céréales obtenues à partir de semences désinfectées. Les diffusions radiculaires sont recueillies selon la technique de Fenwick (1949), par lavage des racines de plantes (Fig. 12) qui se développent dans du sable stérile. Nous utilisons aussi des solutions de différents acides organiques et inorganiques à quatre concentrations ; la dilution est faite dans de l'eau distillée et la proportion des concentrations est calculée en volume si l'acide est liquide ou en poids s'il est solide.

Le chapitre le plus important de l'étude sur la sortie de la diapause a concerné le stimulus thermique. Les kystes sont placés sur des tamis en matière plastique flottant dans des boites en polystyrène contenant 500 ml. d'eau. De petits morceaux de liège collés au baume du Canada assurent la flottaison des tamis. Nous utilisons ce type de tamis, car selon SHEPHERD (1959) l'éclosion des oeufs d'H. schachtii est augmentée par l'usage des tamis en nylon.

Une étude antérieure de FENWICK (1949) et de FENWICK et WIDDOWSON (1948) ayant montré que, d'une manière générale, une appréciation valable de l'éclosion des larves d'Heterodera est obtenue avec cinq répétitions de 100 kystes après chaque traitement, nous utilisons ce nombre dans nos divers essais.

Périodiquement les suspensions de larves sont recueillies puis, après sédimentation, réduites à un volume de 25 ou 50 ml selon l'abondance des éclosions et finalement les comptages sont effectués au moyen de la lame à compter de PETERS (1951) ou des lames type de FENWICK (1951a). A ce sujet, JONES (1955) montre que dans une suspension de larves d'Heterodera, le comptage de 100 de celles-ci donne une excellente valeur avec une approximation de 10 % car leur répartition dans la masse d'eau suit la courbe de POISSON. Cette forme de distribution des larves d'Heterodera et le problème de l'évaluation de leur nombre par des techniques de dilution ont été étudiés auparavant par beaucoup de chercheurs parmi lesquels FENWICK (1940, 1942, 1951 et 1952), REID (1955), et WILLIAMS et WINSLOW (1955).

Pour vérifier si H. avenae obéit à cette loi, nous soumettons à une analyse de variance différentes séries de chiffres représentant les moyennes obtenues à partir de divers comptages et, lorsque la concentration de la population est supérieure à 100 pour 1 cc, nous constatons qu'effectivement un seul comptage (une lame) est suffisant (voir tableau ci-après).

.../...

TABLEAU FINAL DE L'ANALYSE STATISTIQUE SUR UNE SUSPENSION DES LARVES

De H. avenae

	Variance	Ecart type	Coefficient de variation	Erreur type de la moyenne.	Moyenne
Larves dans 1 ml	38,711	6,221	0,0812 %	1,967	76,6
Moyenne des larves dans 2 ml	34,913	5,908	0,0778	1,868	75,95
Moyenne des larves dans 3 ml	17,930	4,234	0,0584 %	1,339	72,466
Moyenne des larves dans 4 ml	28,309	5,320	0,0713 %	1,682	74,625
Moyenne des larves dans 5 ml	8,151	2,855	0,0383	0,902	74,52

CHAPITRE II - ETUDES MORPHOLOGIQUES -

A - OEUFS.

1 - Forme, couleur et aspect.

Les oeufs d'H. avenae non embryonnés sont à peu près deux fois plus longs que larges, arrondis aux extrémités et d'une forme rappelant celle d'un haricot (Fig. 37).

Cet aspect se rencontre chez les autres Heteroderidae et, en général, chez tous les phytophages, SCHMIDT (1930) et GOFFART (1932) observent que les oeufs d'H. avenae présentent une légère différence de forme et de taille par rapport à ceux d'H. schachtii : ils sont plus longs et leurs extrémités sont aplaties.

Durant le développement de l'embryon, la forme s'altère, la larve repliée sur elle-même provoque des boursouflures, surtout aux extrémités. A ce stade, il ne s'agit plus à proprement parler d'un oeuf, mais d'une larve enveloppée dans le chorion qui épouse ses contours. L'oeuf embryonné, tel qu'il apparaît dans les kystes, est en général plus large près de ses extrémités qu'en son centre, (Fig. 13).

Au début l'oeuf est hyalin et apparaît légèrement granulé. Au bout d'un certain temps, à un stade plus avancé du développement embryonnaire, il prend une coloration presque crème. Chez les oeufs embryonnés depuis plusieurs mois qui, nous le verrons, sont en diapause, la coloration est jaunâtre et terne.

Au sujet de la composition chimique de l'oeuf, on sait encore peu de choses. Chez H. rostochiensis, TRACEY (1958) a mis en évidence de la chitine.

2 - Taille de l'oeuf.

VOIGT (1894) en Allemagne et TRIFFITT (1929) en Angleterre donnent les chiffres moyens suivants : Longueur : 106 μ ; largeur : 41 μ ; $\frac{L}{l}$: 2,6. TRIFFITT signale en outre que la taille des oeufs diffère selon que le kyste a été préalablement fixé ou non. GOFFART (1930) en Allemagne donne 118 μ pour la longueur. PUTNAM et CHAPMAN (1935) au Canada mentionnent pour les oeufs des populations de la région d'Ontario : L : 115 μ ; l : 43 μ ; $\frac{L}{l}$: 2,5.

En Australie où l'hôte préféré est le blé, MILLIKAN (1938) a trouvé L : 126 μ ; l : 28,5 μ et $\frac{L}{l}$: 4,4, mais FRANKLIN (1951) estime que ces données sont sujettes à caution.

Les mensurations que nous avons faites sur 1.000 oeufs embryonnés prélevés dans 100 kystes différents provenant d'une population d'H. avenae de Castelnaudary, sont les suivantes :

.../...

Longueur : 122 µ - 148 µ (moyenne : 134 µ)
Largeur : 45 µ - 54 µ (moyenne : 48 µ)
Longueur / Largeur : 2,2 - 3,3 (moyenne : 2,8)

Ces mesures présentent quelques différences avec celles relevées par les auteurs cités ci-dessus qui portent sur d'autres populations de cette espèce.

En effet, les oeufs de la population provenant de Castelnaudary sont les plus longs mentionnés jusqu'à ce jour et se rapprochent en cela de ceux de la population étudiée par MILLIKAN qui est justement inféodée au blé comme celle du Lauragais. En ce qui concerne la largeur, il n'y a pas de différences notables avec ce qui est déjà connu sauf avec les données de MILLIKAN qui font l'objet de réserves.

Il nous est arrivé parfois de rencontrer quelques oeufs nains dont la taille était réduite de 15 % par rapport à la moyenne, mais qui renfermaient des larves normales.

Nous parlerons plus loin des relations entre la taille du kyste, le nombre d'oeufs contenus et les dimensions de ceux-ci.

B - LARVE INFECTIEUSE DU 2EME STADE.

Il convient d'abord de signaler qu'aucune étude morphométrique n'a été réalisée sur le 1er stade larvaire ni sur le début du second, ces deux phases se situant entièrement à l'intérieur du chorion de l'oeuf, et la larve nouveau-née appartenant déjà au deuxième stade avancé, (Fig. 14).

1 - Caractères morphologiques de la larve du 2ème stade.

Après l'éclosion, la larve du 2ème stade, infectieuse et mobile, se déplace dans le sol à la recherche d'une racine hôte. Elle est filiforme et cylindrique (Fig. 15), ses annulations transversales (d'une largeur de 1,8 - 1,9 µ) sont bien marquées, elles sont interrompues au niveau des champs latéraux formés de 4 incisions parallèles et longitudinales.

A l'extrémité antérieure on trouve une armature céphalique très marquée, séparée par une constriction du reste du corps (Fig. 16). Le tube digestif débute par un stylet robuste du type tylenchoïde : le prorhabdion, qui correspond à la pointe, représente approximativement les 2/5 de sa longueur, le méso et le métarhabdion qui constituent la partie tubulaire forment les 3/5 restants. Cette extrémité inférieure du stylet est flanquée, comme cela est le cas chez les autres Tylenchoidea, de trois pièces à peu près ovoïdes : les télorhabdions (renflements basaux, boutons basaux, pièces basales ou "Knobs", des auteurs anglo-saxons). Le tube digestif comprend ensuite, successivement de l'avant vers l'arrière, un conduit cylindrique assez court (oesophage, proprement dit), un bulbe musculaire médian, le bulbe glandulaire, un

.../...

cardia peu visible et un intestin sans caractère particulier conduisant à un anus ventral et subterminal, Aucun de ces organes ne présente de caractères permettant une distinction nette avec les autres espèces du genre.

Toutefois, il est bon de rappeler que chez les Heteroderidae le bulbe musculaire largement arrondi présente en son centre une valvule remarquablement visible. Les glandes oesophagiennes (deux subventrales et une dorsale) sont, par contre, plus obscures ; elles couvrent par leurs trois lobes une partie de l'intestin. Chacun de ces lobes comprend un noyau ; du lobe dorsal part un conduit qui remonte le long du tube digestif et vient déboucher à quelques microns sous l'extrémité inférieure du stylet.

Entre le bulbe musculaire et les glandes précédentes, l'oesophage est entouré de l'anneau nerveux. Au même niveau, au contact de la cuticule et sur la face ventrale, se place un hémizonide et sous celui-ci se trouve le pore excréteur de l'animal. Postérieurement à cette région oesophagienne, la cavité générale du Nématode, qui apparaît chargée de gros globules assez clairs, s'étend au-delà de l'anus sans toutefois atteindre l'extrémité de la queue. Cette queue chez les Heterodera est conique, allongée en pointe, en partie vide sous la cuticule, ce qui détermine une zone hyaline qui est un critère du genre (Fig. 17). Cette partie hyaline de la queue peut même montrer des anomalies, parfois sa forme rappelle celle d'un hameçon, d'autres fois elle est tordue et tourmentée. FRANKLIN (1938) a comparé la queue des larves du 2ème stade chez plusieurs espèces d'Heterodera (dont 4 considérées alors comme des races d'H. schachtii) ; ses dessins montrent que la queue des larves d'H. avenae est parmi les plus effilées.

Dans cette larve du 2ème stade, on remarque déjà à mi-longueur de l'animal le primordium génital. Ce primordium est connu chez toutes les espèces de Meloidogyne et d'Heterodera. Il se présente sous la forme d'une masse ovoïde de deux cellules, difficiles à distinguer, dont on peut parfois apercevoir les noyaux. Il n'est pas toujours bien visible, ainsi que l'a déjà remarqué RASKI (1950) sur H. schachtii ; chez certains spécimens d'H. avenae, il se détache cependant de l'ensemble par sa structure plus fine et son apparence plus opaque.

2 - Mensurations des larves du 2ème stade.

La grande taille des larves infectieuses, relativement à celle des autres espèces d'Heterodera, lui avait valu le nom de H. major tombé depuis en synonymie comme nous l'avons déjà signalé.

Le tableau suivant montre la longueur des larves d'H. avenae, recueillies par différents auteurs parmi des populations d'autres pays.

.../...

Population Allemande (GOFFART, 1930)	0,56 mm de moyenne
Population Allemande (GOFFART, 1960b)	0,54-0,58 mm
Population Allemande (SCHMIDT, 1930)	0,55-0,60 mm (moy. 0,57 mm)
Population Australienne (hôte : blé) (MILLIKAN, 1930)	0,43-0,49 mm
Population Anglaise (TRIFFITT, 1929)	0,43-0,50 mm (moy. 0,47 mm)
Population Anglaise (FRANKLIN, 1940a)	0,58 mm moyenne (larves écloses) 0,57 mm moyenne (larves dans l'oeuf)
4 autres populations (FRANKLIN, 1951)	0,567-0,576 mm (moy. 0,575mm)
Population Anglaise (FENWICK et FRANKLIN, 1957)	0,582 mm de moyenne
Population Canadienne (PUTNAM et CHAPMAN, 1935)	0,53-0,55 mm

En ce qui concerne la population Lauragaise, sur 1.000 individus mesurés, nous avons trouvé une longueur comprise entre 0,55 et 0,63 mm (moyenne : 0,59 mm).

De plus, la largeur des spécimens de la population de Castelnaudary varie entre 22,5 et 23,9 µ pour une moyenne de 23,1 µ et les rapports classiques sont les suivants :

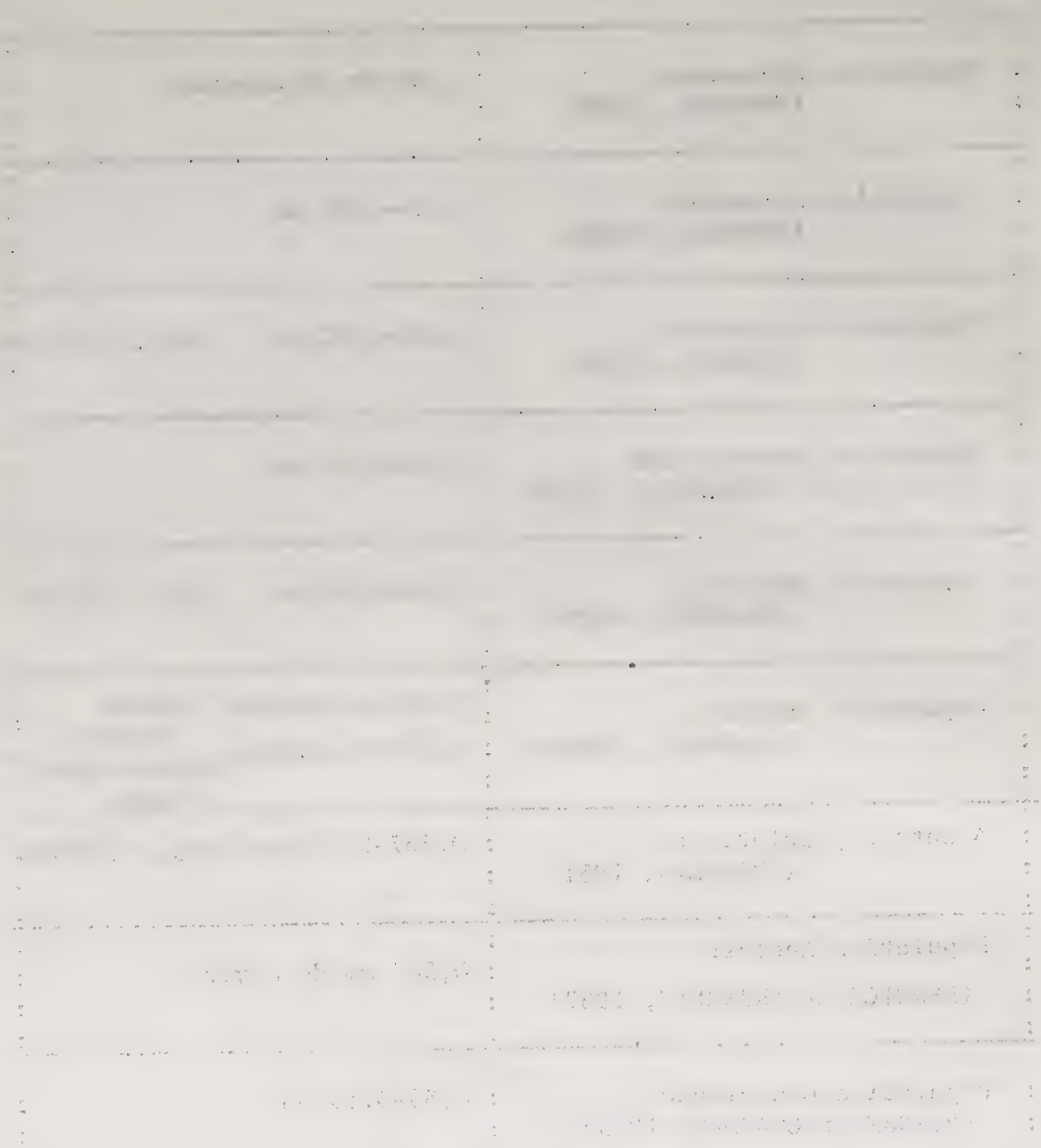
a (= $\frac{\text{Longueur totale}}{\text{largeur}}$ = 23,8 - 27,6 (moy. 25,8) ;

b (= $\frac{\text{Longueur totale}}{\text{Longueur jusqu'à l'oesophage}}$ = 3,0 - 3,6 (moy. 3,3) ;

c (= $\frac{\text{Longueur totale}}{\text{Longueur de la queue}}$ = 6,1 - 6,9 (moy. 6,7) ;

La longueur du stylet varie dans nos spécimens entre 25,7 et 29,4 µ (soit 27,1 µ en moyenne), alors que TRIFFITT (1929) donne 22 µ pour sa population de Grande-Bretagne, GOFFART (1930) pour la population Allemande 26 µ et MILLIKAN (1930) pour le biotype d'H. avenae présent en Australie 24,8 à 29,2 µ.

.../...



La queue des spécimens du Lauragais mesure entre 82,8 µ et 92 µ avec une valeur moyenne de 87 µ. Selon GOFFART (1960b) chez H. avenae la longueur de la partie hyaline de la queue est de 1 à 1,5 fois celle du stylet ; pour la population qui nous préoccupe nous avons trouvé une valeur de 1,7. La zone hyaline de la queue atteint de 41,8 à 57,0 µ (moyenne : 49,4 µ) pour une largeur maxima de 11,3 à 12,8 µ (moyenne : 12,1) (toujours sur les 1.000 spécimens observés). Le rapport longueur/largeur de cette zone hyaline, plus aisé à évaluer que celui de la queue (l'anus étant souvent peu visible et douteux), permet de définir le degré d'amincissement de l'extrémité de la queue.

D'après ces mensurations, il semble que dans la population du Lauragais les larves infectieuses sont d'une façon générale de très grande taille et se situent à la limite supérieure des valeurs données à ce jour pour l'espèce.

Il nous est arrivé parfois de trouver des larves plus petites (dans la proportion de 2 pour 1.000) ; L = 0,51 mm au lieu de 0,59 mm, mais il faut remarquer que dans ce cas la variation n'affectait que la longueur, les autres données étant normales.

Il se peut que le nanisme de la larve infectieuse soit lié à celui de l'oeuf. Le fait que nous ayons trouvé à la fois des oeufs et des larves naines, vient à l'appui de cette hypothèse.

MULVEY (1960e) avait trouvé un fait analogue chez H. trifolii avec un nanisme atteignant 20 % par rapport à la longueur normale du stade chez ce Nématode.

Malgré le grand nombre de larves mesurées, nous n'avons jamais trouvé d'individus géants. Toutefois, des oeufs et des larves de taille supérieure à la normale ont été signalés chez H. trifolii, H. rostochiensis et H. humuli, respectivement par MULVEY (1959b et 1960c, d, e), ONIONS (1953) et DE GRISSE et GILLARD (1962). MULVEY explique le cas de H. trifolii de la manière suivante ; les oeufs normaux de cette espèce possèdent 27 chromosomes (il s'agit d'une des espèces connues pour avoir une reproduction parthénogénétique normale et qui ne subit donc pas de réduction chromatique). Les oeufs géants seraient obtenus à partir d'ovocytes normaux fécondés par des spermatozoïdes à 9 chromosomes de l'espèce voisine H. schachtii et le nombre de chromosomes serait ainsi de 36 donnant des embryons polyploïdes. Aucune hypothèse n'a été émise en ce qui concerne H. rostochiensis et H. humuli.

C - MODIFICATIONS MORPHOLOGIQUES, ANATOMIQUES ET DIFFERENCIATION DES SEXES PENDANT LES TROISIEMES ET QUATRIEMES STADES LARVAIRES.

Il est intéressant de signaler qu'en 1941, FILIPJEV et SCHUURMANS-STEKHOVEN avaient indiqué pour le genre Heterodera que la larve de troisième

stade ne possédait pas de caractère permettant la différenciation du sexe. Or dernièrement, plusieurs auteurs ont montré que ce stade présente des détails anatomiques assurant une bonne diagnose du sexe.

Ainsi CHITWOOD et BUHRER (1946) indiquent que la larve mâle du 3ème stade d'H. rostochiensis a un rectum plus long que la larve femelle du même âge. Cependant, RASKI (1950) reprenant ce point précis affirme n'avoir trouvé aucune différence chez l'espèce H. schachtii, mais signale par contre que le bulbe musculaire de l'oesophage des larves mâles est moins large et peut être utilisé dans la diagnose du sexe.

H. avenae est une espèce bisexuée qui présente des caractères sexuels secondaires très marqués. Ceux-ci font leur apparition à partir du troisième stade larvaire. Nous allons suivre dans ce chapitre en premier lieu le processus d'élaboration des gonades mâles et femelles à partir de la frêle ébauche du deuxième stade. Nous verrons qu'au fur et à mesure de leur différenciation, la distinction des sexes se manifeste sous ce double aspect. Bien que l'évolution de l'ébauche génitale soit en fait le critère absolu pour l'identification du sexe du futur adulte, nous envisagerons d'abord les modifications plus générales qui s'enchaînent avec la description précédente.

1 - Modifications diverses concomittantes à l'évolution de la gonade après la pénétration dans l'hôte.

Dès que la larve infectieuse a pénétré dans les tissus de l'hôte, elle perd totalement sa mobilité et commence à s'accroître un peu en largeur avant de donner le 3ème stade. Cet épaississement qui entraîne une diminution de la longueur totale du corps et qui permet de mieux voir les annulations transversales n'affecte que la partie postérieure du corps sur 80 % de sa longueur, l'extrémité antérieure ou "cou" restant plus mince.

Voici les mensurations de la larve parasite juste avant la mue précédant le 3ème stade (pour 20 individus mesurés) :
L : 0,53 - 0,56 mm (moyenne : 0,54 mm) - l : 35,4 µ - 38,6 µ (moyenne 36,5 µ) longueur du "cou" : 110,4 µ - 129,2 µ (moyenne : 119,8 µ) - largeur du "cou" : 22,4 µ - 25,9 µ (moyenne 25,4 µ).

La partie hyaline de la queue se réduit de 49,3 µ à 32,3 µ en longueur et passe de 12 à 14 µ en largeur. Elle disparaît totalement avec la seconde mue : la larve de 3ème stade élimine ce vide en formant sa cuticule directement au contact de la partie postérieure des tissus et l'animal perd ainsi sont extrémité caudale en pointe. Chez de nombreux individus venant juste de muer, on peut encore la voir accrochée au reste de l'exuvie à la manière d'un petit capuchon (Fig. 18). Ceci entraîne un nouveau raccourcissement et la jeune larve du 3ème stade est nettement plus courte que la

larve migrante et infectieuse du 2ème stade. Les mensurations de la larve du 3ème stade sont les suivantes (pour 20 individus mesurés) :
L : 0,48 - 0,52 mm (moyenne : 0,51 mm) - l : 41,8 µ - 58,9 µ (moyenne ; 52,2 µ) longueur du "cou" : 84,4 µ - 110,4 µ (moyenne : 94,1 µ) - largeur du "cou" : 28,5 µ - 30,3 µ (moyenne 29,1 µ).

A partir de ce moment, il y aura une évolution morphologique différente entre larves mâles et femelles. Il est nécessaire toutefois de remarquer que dans le cas précis de H. avenae, le rectum, d'ailleurs peu discernable, ne semble pas présenter d'écarts entre les deux sexes à ce stade du développement. En outre, l'intestin de cette larve n'apparaît pas de manière continue, mais sous forme d'îlots clairs en chapelet. A cause de cela, nous n'avons pas considéré ce caractère dans les descriptions suivantes.

a - Evolution au cours du 3ème stade larvaire et du stade préadulte mâle.

Chez la larve mâle du 3ème stade, le "cou" est plus prononcé que celui de la larve femelle correspondante et sa largeur est à peu près constante jusqu'à un niveau où le diamètre du corps augmente brutalement. Cet élargissement se conserve plus ou moins sur presque toute sa longueur. Ceci constitue du point de vue morphologique une différence essentielle avec la larve femelle. De plus, la valeur maximale se situe parfois tout à l'avant du corps proprement dit de la larve, alors qu'elle est toujours dans la moitié postérieure chez la femelle. La queue est en forme de cône ouvert avec une petite extrémité hyaline et n'est pas complètement arrondie comme c'est le cas pour l'autre sexe, (Fig. 19).

Voici les mensurations de la larve mâle en fin de troisième stade (moyenne de 20 individus) :
L : 0,45 - 0,49 mm (moyenne : 0,48 mm) - l : 92 - 107 µ (moyenne 96 µ)
la longueur du "cou" varie entre 70 et 97 µ (moyenne 81 µ) avec une largeur de 23 à 28 µ (moyenne 25 µ).

Au stade préadulte, la forme extérieure demeure à peu près constante et toute l'évolution, qui est une véritable métamorphose, va se faire dans une sorte de sac constitué par la cuticule du 3ème stade ; celle-ci n'est pas rejetée à la suite de la mue comme on l'observe chez la femelle, (Fig. 20, 21, 22).

On assiste d'abord à une contraction des tissus qui s'éloignent de la paroi et où l'on ne distingue plus aucune organisation (exception faite de l'ébauche génitale dont nous parlons plus loin). L'animal s'étant rétracté, le stylet est abandonné dans le tégument, la nutrition cesse aussi et on aperçoit distinctement à la partie postérieure l'orifice anal sur la cuticule

délaissée. On observe alors des mouvements vigoureux de l'ensemble de la masse informe des tissus, puis cette masse s'allonge considérablement et atteint une longueur d'environ 1,2 mm. Cette croissance de l'animal l'oblige à s'enrouler en boucles très larges sur trois replis qui sont en constant déplacement en raison de ses mouvements incessants. Bientôt les organes qui seront ceux de l'adulte, commencent à se former : la pointe du stylet se différencie de la première (c'est-à-dire par le prorhabdion). Le reste apparaît ensuite à peu près en même temps que les cheilorhabdions et la totalité de l'armature céphalique. L'oesophage est indistinct et la majeure partie de la cavité générale est occupée par la gonade dont nous décrivons l'évolution complète plus loin.

A la fin du stade préadulte, l'enveloppe constituée par la cuticule précédente s'est quelque peu distendue, elle est plus longue et un peu moins large, (Fig. 22).

b - Evolution morphologique au cours des 3ème et 4ème stades larvaires femelles.

La larve femelle va poursuivre progressivement sa croissance essentiellement en largeur ; elle devient ainsi de plus en plus trapue d'autant plus qu'au début sa taille continue même à diminuer. Cette croissance particulière s'étend lentement au "cou" et elle confère bientôt à l'animal une silhouette en losange (que n'a pas la larve mâle). L'extrémité postérieure est largement arrondie et la largeur maximale se trouve toujours dans la seconde moitié du corps, (Fig. 19).

A la fin de ce stade, la distribution des sexes devient aisée grâce à la forme de l'ébauche génitale dont nous parlerons plus tard. Sur 20 individus, nous avons relevé à ce moment les dimensions suivantes :
L : 0,45 - 0,50 mm (moyenne : 0,47 mm) - l : 93,4 µ - 161,0 µ (moyenne 128,7 µ) largeur à la base du stylet : 19,3 µ - 27,6 µ (moynne : 25,3 µ). Bien que la partie antérieure du corps reste toujours plus ou moins étroite (en forme de "cou"), nous n'avons pas noté sa longueur car dans cette zone l'élargissement est très progressif et il est difficile de lui donner une limite postérieure. Le pore excréteur, situé à la base de la zone rétrécie, est toujours parfaitement visible. La face antérieure de la zone céphalique (englobant la pointe du stylet) forme chez la plupart des individus, aussi bien vivants que morts et fixés, un angle assez ouvert et caractéristique avec la paroi du corps qui suit.

Au 4ème stade, l'obésité de la femelle s'accentue et sa longueur atteint 0,48 - 0,62 mm (moyenne : 0,53 mm) pour une largeur de 165 - 251 µ (moyenne 218 µ). L'extrémité postérieure est maintenant parfaitement arrondie car le cône vulvaire n'est pas encore formé. L'armature céphalique a pratiquement disparue et seuls les deux premiers anneaux ont échappé à

.../...

l'élargissement total de l'animal, formant ainsi une petite couronne bien séparée du reste du corps. Le stylet est bien visible, de même que le bulbe qui a acquis un diamètre assez notable (22-27 µ). L'intestin se perd dans la masse du corps où les ébauches génitales occupent de plus en plus de place alors que le vagin commence à se dessiner, (Fig. 58D).

2 - Evolution de l'ébauche génitale.

a - Pendant le 3ème stade.

Chez toutes les espèces d'Heterodera, la distinction des sexes est possible à partir du 3ème stade avancé et le meilleur caractère est la forme de l'ébauche génitale, au début du 3ème stade, l'identification du sexe par l'ébauche reste encore très délicate bien que celle-ci ait grandi (Fig. 58B). Lorsque ce dernier stade est plus avancé, on rencontre soit une ébauche à deux branches (en forme de croissant) qui sera à l'origine des deux gonades chez la femelle, soit une ébauche elliptique qui donnera l'unique gonade du mâle. Il n'y a alors encore aucune trace d'orifice génital quoiqu'en fin de stade ces ébauches aient atteint l'extrémité postérieure par leur développement propre. Toujours à la fin du 3ème stade, on remarque déjà le ou les replis des gonades, femelles ou mâles, replis dont les parties distales forment les futures zones germinales, (Fig. 58C et F).

b - Pendant le 4ème stade .

- Cas des mâles.

Au cours de la métamorphose, on perd la trace de tous les organes à l'exception toutefois de l'ébauche génitale qui conserve la forme acquise à la fin du stade précédent et qui s'accroît en longueur en même temps que l'individu. Cette ébauche, située postérieurement, permet d'orienter l'animal au début de la métamorphose, (Fig. 58G).

A la fin de celle-ci, le mâle redevenu vermiforme, enveloppé dans la cuticule du 3ème stade, possède sont testicule, le canal déférent, la paire de spicules et leur gubernaculum qui se son formés très progressivement, en même temps que se différencient les autres organes du mâle. Ainsi, en même temps que le stylet commence à apparaître à l'autre extrémité, les spicules deviennent visibles sous la forme de deux points réfringeants qui s'étirent vers l'arrière, prenant bientôt leur aspect définitif, et atteignent finalement le cloaque alors très ouvert. Le gubernaculum apparaît en dernier, (Fig. 58H).

- Cas des femelles.

Les ébauches femelles vont intensifier leur développement en longueur et atteindre la proximité de la future vulve. On assiste dès ce stade à la différenciation histologique des différentes parties de la gonade où apparaissent les cellules germinales, puis les oocytes : en même temps

.../...

la spermathèque et le vagin s'individualisent.

La croissance de l'ébauche femelle s'accompagne d'un élargissement considérable de l'ensemble du corps, ce qui lui confère déjà l'obésité très marquée que nous avons signalée, (Fig. 58D).

D - DESCRIPTION DU MALE ADULTE.

1 - Caractères morphométriques du mâle.

Il existe chez H. avenae (comme chez l'ensemble de la famille) un dimorphisme sexuel remarquable puisque le mâle récupère, après une véritable métamorphose, l'habitus anguilluliforme de la larve infectieuse alors que la femelle a définitivement acquis une forme très obèse. A ces différences qui portent sur les caractères morphologiques, s'ajoutent des différences de comportement aussi importantes, les deux étant d'ailleurs liées puisque la femelle est sédentaire alors que le mâle est libre et mobile dans le sol après qu'il se soit dégagé du sac formé par la cuticule du 3ème stade, (Fig. 23).

Pour le mâle de H. avenae, TRIFFITT (1929) rapporte une longueur comprise entre 1,24 mm et 1,48 mm (moyenne : 1,36 mm) et signale en plus une taille de 36 µ pour les spicules. FRANKLIN (1951), pour 100 individus, donne une moyenne de 1,38 mm ainsi que l'avait déjà signalée VOIGT. Elle remarque en outre que le mâle de H. avenae est très semblable à celui de H. schachtii par sa taille, son aspect général et même par la longueur et la courbure des spicules.

A ce sujet, il est nécessaire d'indiquer que les caractères spécifiques que possède le mâle sont en général très difficiles à apprécier ; seuls les spicules présentent des différences de taille et de forme discernables. Une étude morphométrique faite par FRANKLIN (1940a), sur cette structure, a permis de distinguer plusieurs espèces dont H. avenae dans ce qui était considéré à l'époque comme le complexe H. schachtii. Dans ses illustrations, cet auteur montre les différences de structure de cet organe et fait ressortir que celui d'H. avenae, comme chez H. rostochiensis, n'est pas dentelé à son extrémité distale.

en ce qui concerne le mâle de la population française de Castelnaudary, nous pouvons donner, d'après les chiffres obtenus sur 25 individus fixés et montés à la glycérine, la description morphologique suivante :

sa longueur varie entre 1,10 mm et 1,44 mm (moyenne : 1,34 mm), alors que sa largeur est de 30-35 µ (moyenne : 32 µ). Les rapports classiques sont les suivants : a : 38 - b : 6,9 - Stylet : 28,5 - 29,5 µ (moyenne : 28,8 µ) - Spicules : 33,0 - 36,4 µ (moyenne : 34,2 µ). Les anneaux bien que fins sont visibles sur toute le longueur et restent transversaux même sur l'extrémité

.../...

arrondie de la queue. Les champs latéraux portant quatre incisures se prolongent très postérieurement et ne disparaissent que sur le contour extrême de la queue, (Fig. 58 I).

On trouve à l'extrémité antérieure une armature céphalique épaisse et une constriction nette sépare cette région - qui n'englobe que 5 anneaux - du reste du corps (Fig. 24). Le stylet d'apparence robuste porte trois forts renflements basaux et sa structure est identique à celle des larves infectieuses. Nous lui avons trouvé une longueur moyenne de 28,8 µ, très voisine par conséquent de celle donnée par TRIFFITT (28 µ) (1929). On remarque que le bulbe oesophagien médian est relativement moins massif que celui des larves infectieuses. Les structures du reste du tube digestif sont moins nettes bien qu'elles conservent leurs principaux caractères.

Au delà de la région oesophagienne, le corps est surtout occupé par l'unique testicule qui rend l'observation de l'intestin difficile. La gonade s'étend sur 650 à 755 µ, soit environ 55 % de la longueur du corps.

Des spermatozoïdes ronds aux diverses phases de leur évolution, occupent la presque totalité du tractus génital ; ils atteignent ensuite les deux spicules d'accouplement. Ces spicules ont la forme d'un arc très ouvert ventralement et sont affectés d'une légère torsion dirigée vers l'intérieur, à peu près à la moitié de leur longueur. Le manubrium (c'est-à-dire l'extrémité proximale) est large, claviforme et plutôt épais. Par contre, la finesse de la paroi près de la pointe du spicule entraîne un enroulement partiel de celle-ci dans le sens de la longueur de telle manière qu'à l'extrémité distale cet enroulement constitue une sorte de tube clairement visible en vue ventrale. Enfin l'animal possède un gros gubernaculum ; par contre, il n'y a pas de bursa comme chez les autres Heteroderidae et l'ouverture cloacale est presque terminale, (Fig. 25).

2 - Rapports biométriques entre le mâle et la larve du 2ème stade.

Les larves mâles ou futurs mâles, après une phase libre, passent ainsi à la fin du 2ème stade par une phase de parasitisme vis-à-vis des céréales avant de redevenir libres après leur métamorphose. Il est intéressant de comparer les dimensions au début et à la fin de cette phase, ne serait-ce que pour évaluer la croissance effectuée pendant cette période qui est celle de la métamorphose. Le tableau ci-dessous donne les mensurations moyennes du mâle et de la larve infectieuse correspondante et leur rapports.

.../...

	L	l	Stylet
Larve 2ème stade	0,59 mm	23,1 u	27,1
Mâle	1,34 mm	32,0 u	28,8 u
Rapport d. mâle / d. larve	2,3	1,4	1,1

E - DESCRIPTION DE LA FEMELLE AVANT ET APRES LA FORMATION DU KYSTE.

1 - Description de la femelle adulte et vivante.

Chez tous les Heterodera du groupe, la femelle acquiert sa forme de citron caractéristique après la 4ème mue. Le cône vulvaire se forme à l'extrémité distale et bientôt tous les organes annexes des gonades achèvent leur formation et la femelle atteint son complet développement, (Fig. 26). Son hypertrophie la fait alors saillir hors des tissus radiculaires et la rend visible à l'oeil nu sous la forme d'un petit point blanc de la grosseur d'une tête d'épingle.

La zone périnéale se recouvre d'une substance gélatinause appelée "matrice" et parfois nommée aussi "sac d'oeufs" car on peut y trouver des oeufs en plus ou moins grand nombre selon les espèces, (Fig. 27).

La matrice n'est présente que chez la femelle vivante et fréquemment la terre s'agglutine sur cette sécrétion qui est alors difficilement discernable ; c'est pour cette raison que, pour plusieurs espèces, elle a échappé durant des années aux observations notamment chez H. rostochiensis où elle est très petite.

Cette matrice peut être considérée comme un caractère d'évolution au sein du genre Heterodera. En effet, si elle est bien présente chez toutes les espèces actuellement connues, son importance est très variable. Chez H. punctata et chez H. rostochiensis, qui sont probablement des espèces archaïques, elle est réduite à une simple goutte, chez les espèces citriformes, vraisemblablement plus évoluées, la matrice prend un grand développement et reçoit même (c'est notamment le cas de H. oryzae) une quantité d'oeufs parfois supérieure à celle qui est retenue dans le kyste après la mort de la femelle. D'ailleurs JONES (1950 et 1952) est parvenu à grouper les espèces d'après la quantité d'oeufs trouvés dans la matrice et le volume de celle-ci. L'origine exacte de cette substance est mal connue chez les

.../...

Heterodera, par contre elle a été bien étudiée chez les Meloidogyne où son rôle protecteur est primordial étant donné que les femelles ne forment pas de kyste. D'après NAGAKURA (1930) et BIRD (1958) elle serait secrétée par l'utérus, alors que pour ELSEA (1951) elle serait produite par les glandes rectales. MAGGENTI et ALLEN (1960) montrent que la matrice provient, au moins en partie, de six glandes rectales des Meloidogyne. Chez les Heterodera, d'après un travail de MACKINTOSH (1960) - concernant cette sécrétion chez H. cruciferae - elle aurait son origine dans l'utérus car la substance envahit le vagin et la base de la gonade. Pour THORNE (1961), les bullae seraient des organes spécialisés ayant un rôle dans la sécrétion de cette matrice. Cette dernière hypothèse nous semble peu vraisemblable pour H. avenae, car ici les bullae, bien qu'abondantes, n'ont apparemment pas de débouché à l'extérieur. Par contre nos propres observations vont dans le même sens que celles de MACKINTOSH ; en effet, on remarque souvent lors de la dissection des jeunes femelles une substance analogue enrobant les oeufs dans l'utérus et même plus haut dans la gonade.

Chez H. avenae la matrice reste constamment vide et, comme on prête à cette substance un rôle protecteur pour l'oeuf vis-à-vis du milieu extérieur, elle peut sembler sans utilité dans ce cas. MULVEY (1957) pense que l'absence d'oeufs dans la matrice de cette espèce est dûe à l'étroitesse des lèvres vulvaires qui empêchent la ponte. Toutefois, nous considérons qu'elle joue aussi un rôle pour l'attraction et le maintien du mâle lors de l'accouplement. En effet, celui-ci prend place au début de la vie adulte dès l'apparition de la matrice. On assiste aussitôt après au commencement de l'évolution des oocytes, la femelle se remplissant très rapidement d'oeufs.

2 - Description du kyste.

a - Morphologie générale.

Le kyste résultant du "tannage" de cuticule des femelles après leur mort, protège les oeufs et constitue une forme de résistance. L'extrémité antérieure porte un "cou" au bout duquel se trouve la "tête". Le "cou" se distingue nettement de l'ensemble du kyste et chez les vieux kystes, il est souvent coupé.

A l'extrémité opposée on trouve un cône vulvaire caractéristique qui donne à l'animal un aspect citriforme. Comme nous l'avons déjà signalé, l'anatomie de cette protubérance (cône vulvaire) est d'une importance primordiale pour la détermination spécifique des Heterodera de ce groupe. A ce sujet, COOPER (1955a) signale que la taille, la proportion et la forme de toutes les structures organiques qui sont contenues dans le cône vulvaire se maintiennent constantes chez tous les kystes d'une même espèce, indépendamment de leur taille respective. Chez H. avenae, le cône vulvaire est

.../...

relativement large et peu allongé, ce qui confère aux kystes un aspect citriforme moins marqué que pour les autres Heterodera de ce groupe, (Fig. 28).

La forme très ouverte du cône vulvaire du Nématode des céréales provient, selon THORNE (1961), d'une chambre vaginale dont nous avons aussi observé l'existence chez la jeune femelle. Cette chambre, selon l'auteur, est entourée d'une couronne de muscles soutenant les organes terminaux et repoussant les bullae contre les fenêtres. Nous considérons plutôt que l'élargissement du cône vulvaire et le resserrement terminal des bullae résultent de l'absence de "sous-pont" chez l'espèce, car chez les Heterodera où le cône est long, cette structure est très développée. Elle est reliée latéralement aux parois internes au moyen de deux bras.

Nous pensons également que l'aspect général moins citriforme du kyste d'Heterodera avenae provient aussi du fait que la femelle garde tous les oeufs produits, ce qui distend la paroi et augmente l'ouverture de l'angle du cône vulvaire, non maintenus par les bras d'un sous-pont.

Rappelons que vu de profil, le cône vulvaire de cette espèce ne montre que les bullae fortement resserrées, les autres organes n'existent pas ou restent cachés par ceux-ci. Ces bullae dont la fonction exacte est mal connue, sont assez abondantes, elles se présentent sous forme de petites masses sombres groupées au sommet du cône masquant le vagin. Selon FRANKLIN (1939) ces bullae seraient les points d'attaches de muscles alors que, pour THORNE (1961), comme nous l'avons déjà signalé, ce serait des glandes de sécrétion de la matrice.

Le sommet du cône vulvaire, vu de face, montre une fente allongée transversalement appelée vulve. OOSTENBRINK et DEN OUDEN (1954), MULVEY (1957), GOFFART (1960) et OOSTENBRINK (1962), donnent pour la longueur de celle-ci des valeurs comprises entre 12 et 13 µ et, d'après eux, cette ouverture est l'une des plus étroites observées dans ce groupe d'Heterodera.

Pour la population étudiée, la longueur moyenne de la vulve est 13,5 µ. De plus, comme c'est le cas chez tous les Heterodera citriformes, il existe de chaque côté de la fente une semi-fenêtre. La fente vulvaire se trouve ainsi entre les deux semi-fenêtres dont elle est séparée par les bordures appelées "pont", (Fig. 29, 30).

Ces semi-fenêtres se présentent comme deux taches rondes, plus transparentes que l'ensemble de la paroi du kyste. Nous avons déjà discuté de leur forme et aspect dans le chapitre concernant la position taxonomique de l'espèce.

.../...

b - Couleur.

Lorsque la femelle atteint sa complète mâturité, la cuticule, jusque là d'une teinte blanc opaque, s'épaissit et brunit progressivement jusqu'à devenir marron sombre. Selon JONES (1950) l'obscurcissement de la paroi indique la mort de la femelle. Cette évolution a été étudiée pour la première fois par CHATIN (1887-1888) chez H. schachtii. Pour celui-ci le changement de coloration était provoqué par la sécrétion d'une substance brunâtre élaborée par des glandes épidermiques et rejetée à la surface du kyste à travers des déchirures de la paroi. Selon lui, seuls deviendraient sombres les spécimens dont la cuticule aurait subi des lésions, les autres demeureraient blanchâtres jusqu'à l'éclatement libérant les oeufs. FUCHS (1911) pense également que seuls certains kystes changent de couleur, mais il remarque un brunissement du kyste même en dehors des zones non déchirées et conclut à la présence de pores sur toute la paroi. SENGBUSH, plus tard en 1927, note que le phénomène est favorisé par l'exposition prolongée des kystes à l'air.

En 1946, ELLENBY travaillant avec H. rostochiensis démontre que le processus de coloration de la paroi est dû à l'activité d'un enzyme : la polyphénoloxydase et signale qu'il a trouvé le même composé chez H. schachtii.

En 1953, le même auteur ayant mis en évidence deux couches dans la paroi du kyste, montre que la coloration débute dans la première couche externe fibreuse et se répand ensuite vers l'intérieur comme s'il s'agissait d'une substance élaborée à la surface et diffusant ensuite en profondeur. Mais lorsqu'il réussit à séparer les deux zones : ELLENBY constate que le déroulement du phénomène n'est pas interrompu mais qu'il prend toutefois plus de temps pour la partie interne. Il identifie le processus de durcissement du kyste à celui de la chitinisation du tégument des insectes. Cependant TRACEY (1958) considère qu'il n'y a pas de chitine dans la paroi du kyste d'H. rostochiensis (le même auteur n'a pas trouvé non plus ce produit dans le tégument des larves infectieuses de cette même espèce).

En outre BIRD (1958) a trouvé cette phénoloxydase et les composants phénoliques dans la cuticule de la femelle des Meloidogyne et on sait que chez ce genre, il n'y a jamais formation de kyste. Ce qui indique que le phénomène est en fait plus complexe et doit être mieux étudié du point de vue biochimique.

De plus une légère variation dans les nuances de coloration se présente, selon les espèces d'Heterodera.

En ce qui concerne H. avenae d'après COOPER (qui rapporte une

.../...

discussion de SOUTHEY, 1956), une légère variation dans la pigmentation du kyste semble aussi se manifester selon les contrées.

Nos observations nous permettent de supposer que l'intensité du brunissement est aussi conditionné par l'âge du kyste ; en effet, les kystes vieux de plusieurs mois sont presque morts. En outre, pendant notre étude, nous avons eu aussi l'occasion de remarquer que les kystes blancs laiteux deviennent beaucoup plus rapidement bruns lors d'une exposition prolongée à l'air.

c - Ornementation de la paroi.

La surface des kystes d'Heterodera présente des rides, dont l'aspect caractérise souvent l'espèce. FRANKLIN (1939) et WIESER (1953) supposent que ces rides tirent leur origine des anneaux transversaux de la larve qui, après avoir été élargis pendant la croissance de la femelle, se rétractent en même temps que la paroi du kyste lors de son "tannage".

JONES (1952) donne une classification de ce mode d'ornementations ; il distingue un groupe d'espèces à rides en réticule et un autre à rides en zig-zag. TAYLOR (1957) suggère une subdivision du genre en trois groupes d'après les dessins ("pattern") de la paroi, ce sont les groupes : "schachtii", "cacti" et "rostochiensis". H. avenae qui fait partie du premier groupe possède des ornementations caractéristiques en zig-zag ménageant entre elles une multitude d'alvéoles microscopiques (Fig. 31). THORNE (1961) mentionne chez les kystes de la forme australienne du complexe H. avenae des lignes moins en zig-zag, d'orientation longitudinale.

d - Structure de la paroi.

WIESER (1953) a étudié la structure de cette paroi chez 4 espèces d'Heterodera dont H. avenae. Il note l'existence de deux couches bien distinctes qu'il nomme exo et endocuticule. L'exocuticule est formée de plusieurs strates renfermant des "fibrilles" et l'endocuticule présente deux couches différentes. La surface interne de la paroi est tapissée par la "lamelle basale". Simultanément, ELLENBY (1946 et 1953) rapporte sensiblement la même chose, en indiquant que la cuticule des kystes est perméable à l'eau. L'épaisseur totale de la paroi chez H. avenae a été évaluée à 9 µ (OOSTENBRINK, 1960b).

Par la suite, des observations au microscope électronique effectuées par FERRIS (1956), FERRIS et SIEGEL (1957), uniquement sur la paroi de H. rostochiensis, précisent que la division en endo et exocuticule reste valable, mais les couches observées dans l'exocuticule par WIESER sont bien moins évidentes. D'après eux, dans celle-ci les "fibrilles" semblent plutôt représentées par des flots d'une autre nature, disposés sous forme de strates

.../...

imbriqués dont la concentration est plus élevée près de l'endocuticule. Dans l'endocuticule, on peut distinguer 5 couches successives bien délimitées qui, d'après FERRIS et SIEGEL, résultent de l'alternance de deux composés organiques différents. Les bandes 1, 3, 5, seraient donc similaires. De plus, ils ont observé sur la bordure externe de la paroi une couche mince (0,03 µ) fragmentée et plus dense que le reste de l'exocuticule. D'après l'échelle des photographies présentées par ces auteurs, nous avons estimé à 7,5 µ l'épaisseur de la paroi du kyste d'H. rostochiensis (4,5 pour l'exocuticule et 3 pour l'endocuticule).

e - La couche sub-cristalline (revêtement cireux).

Au cours du processus de durcissement et de tannage de la paroi, on voit apparaître sur celle-ci, chez tous les Heterodera, une sécrétion cireuse couramment appelée couche sub-cristalline. Ce revêtement, qui couvre toute la surface du kyste, est toutefois légèrement plus épais dans la zone équatoriale et lui donne un aspect crayeux et ridé. La couche sub-cristalline se craquelle et se perd par fragmentation assez facilement, si bien qu'elle est rarement observable, surtout dans les vieux kystes, (Fig. 32)

L'origine, la composition et la fonction de la couche sub-cristalline restent mal connues : FUCHS (1911) supposait qu'elle était sécrétée par les pores de microglandes logés dans la paroi et, bien que divers auteurs (FRANKLIN 1939, GOFFART 1960b et OOSTENBRINK 1962), aient signalé la présence de petits trous sur la face externe de la cuticule qui pourraient correspondre aux micropores de ces glandes, nous ne pensons pas que cette hypothèse soit à retenir, car les travaux de FERRIS et SIEGEL au microscope électronique ne font aucun état de ces invaginations. MACKINTOSH (1960) suggère au contraire que ce revêtement cireux est une partie de la couche fine extérieure de l'exocuticule.

La consistance et l'épaisseur de cette couche, comme l'a déjà fait remarquer HESLING (1965), sont liées à l'espèce et c'est justement, selon cet auteur, chez H. avenae qu'elle présente le maximum de développement.

Aucune analyse précise de ses constituants n'a encore été effectuée, mais cet auteur rapporte une communication personnelle de BIRD selon laquelle il y aurait, entre autres substances, des lipoïdes dans la couche sub-cristalline des kystes de cette espèce.

THORNE (1961) pensait que cette couche protégeait le jeune kyste de l'action de prédateurs, tels que les Mononchides, mais ceci est peu probable, vue leurs tailles relatives. Par contre, ce rôle nous semble possible

vis-à-vis des champignons et des bactéries. Cependant nous donnons plutôt, à cette croute, un rôle de régulateur de l'humidité ; ainsi on peut supposer que ce revêtement renforce la protection des oeufs alors que la paroi du jeune kyste n'est pas encore indurée et, une fois le kyste formé, freine peut-être une dessication interne brutale très préjudiciable à H. avenae qui est très sensible à la sècheresse.

3 - Caractères morphométriques du kyste.

H. avenae est l'une des espèces qui forment les plus grands kystes dans l'ensemble des Heterodera. Nous donnons ci-après un tableau de comparaison des données de différents auteurs concernant les kystes d'Heterodera avenae provenant de diverses populations.

Origine de la population et référence bibliographique.	Ø Longitudinal	Ø Latéral	Ø Long. / Ø Lat.	Longueur du "cou"
Populations anglaises				
TRIFFITT (1929)	0,71 mm en moyenne	0,50 mm en moyenne	1,40	84,0 µ
FRANKLIN (1938)			1,41	
FRANKLIN (1940b)			1,44	
Population allemande				
GOFFART (1930)	0,54 mm en moyenne	0,42 mm en moyenne	1,15	52,0 µ
GOFFART (1932)	(0,71 mm en moyenne	0,51 mm en moyenne	1,25	76,9 µ
	(0,74 mm en moyenne	0,52 mm en moyenne	1,39	68,9 µ
Population danoise ANDERSEN (1961)	0,6 mm en moyenne	0,5 mm en moyenne		

Pour la population Lauragaise, sur 100 kystes collectés dans un champ de Castelnaudary, nous avons relevé les dimensions suivantes :

- diamètre longitudinal (cou non compris) : 0,50 à 1,05 mm (moyenne : 0,75 mm),
- Diamètre transversal : 0,38 - 0,75 mm (moyenne : 0,56 mm),
- Rapport $\frac{\text{Longueur}}{\text{Largeur}}$ = 1,36 en moyenne
- Longueur du "cou" : 75,6 µ en moyenne

Au cours de nos recherches, nous avons constamment trouvé des kystes beaucoup plus petits (inférieurs à 0,5 mm) et, pour vérifier qu'il ne s'agissait pas d'une autre espèce, nous les avons élevés sur des hôtes présumés vigoureux. Nous avons pu constater que ce caractère ne se conservait pas dans ces conditions, ce qui permet de penser que le nanisme de certains kystes est dû essentiellement aux mauvaises conditions nutritionnelles rencontrées par l'animal au cours de son développement. Cette hypothèse

.../...

est étayée par le fait que le nanisme se rencontre plus fréquemment au sein des fortes populations et lorsque la pénétration des larves survient sur des graminées commençant à mûrir. HESLING (1965) avait d'ailleurs signalé que cette réduction de taille occasionnelle est assez générale chez les espèces à gros kystes.

Les petits kystes ne peuvent s'identifier à H. avenae que par les caractères de leur fenestralia, puisque leur taille sort complètement de la limite inférieure de l'espèce. Une grande partie en est fréquemment perdue lors des analyses effectuées par les méthodes classiques et leur récupération n'est possible que sur des tamis à mailles serrées (250 µ entre les mailles).

D'après les divers chercheurs qui se sont consacrés à l'étude des Heterodera, il faut éviter de caractériser les populations rencontrées en faisant intervenir les mensurations de tels kystes.

4 - Relation entre les dimensions du kystes, le nombre et la taille d'oeufs contenus et la longueur des larves émises.

Chez toutes les espèces d'Heterodera, on observe une assez grande variation dans la taille du kyste et dans son contenu, on peut penser que les caractères morphométriques du kyste et des éléments qu'il renferme, sont étroitement liés entre eux. D'ailleurs SHEPHERD (1962) suggère que le volume d'un kyste d'Heterodera est proportionnel au cube de son rayon (r^3) et que le nombre d'oeufs qu'il contient doit être en relation avec son volume.

Cependant, des études réalisées à ce sujet chez H. rostochiensis n'ont pas confirmé ces conclusions. Ainsi, ELLENBY (1946) et MULLER (1958) n'ont trouvé aucune corrélation entre la longueur des oeufs et la taille du kyste de ce Nématode. Pour HESLING (1959c), le caractère disparate de ces résultats ne lui a pas permis de se prononcer à cet égard.

Chez H. avenae, il n'existe pas de renseignements sur ce point précis. Ayant trouvé dans la population étudiée, en plus des variations morphologiques précédemment citées, une variation dans la quantité d'oeufs allant de 209 à 919 (moyenne : 305), nous avons soupçonné l'existence d'une relation simple entre la taille du kyste et le nombre des oeufs contenus. L'étude entreprise ici porte, d'une part, sur une centaine de kystes et d'autre part, sur 10 oeufs et 10 larves de chaque kyste étudié. De ce fait, il nous a été possible de voir en plus s'il y avait relation entre les dimensions des oeufs et la longueur des larves.

.../...

Nous avons donc réuni pour chacun des kystes étudiés, les données suivantes :

1 - Longueur des oeufs,

2 - Largeur des oeufs,

3 - Longueur des larves,

4 - Largeur des larves,

5 - Ø Longitudinal du kyste

6 - Ø transversal du kyste,

7 - Nombre d'oeufs.

et analysé statistiquement les liaisons entre ces 7 variables après transformations logarithmiques sous les deux aspects détaillés ci-après :

I - Corrélations directes entre les données numériques -

Après analyse des corrélations, on obtient le tableau suivant dans lequel n'apparaissent que les valeurs des coefficients de corrélation r significatifs au seuil de 5 % :

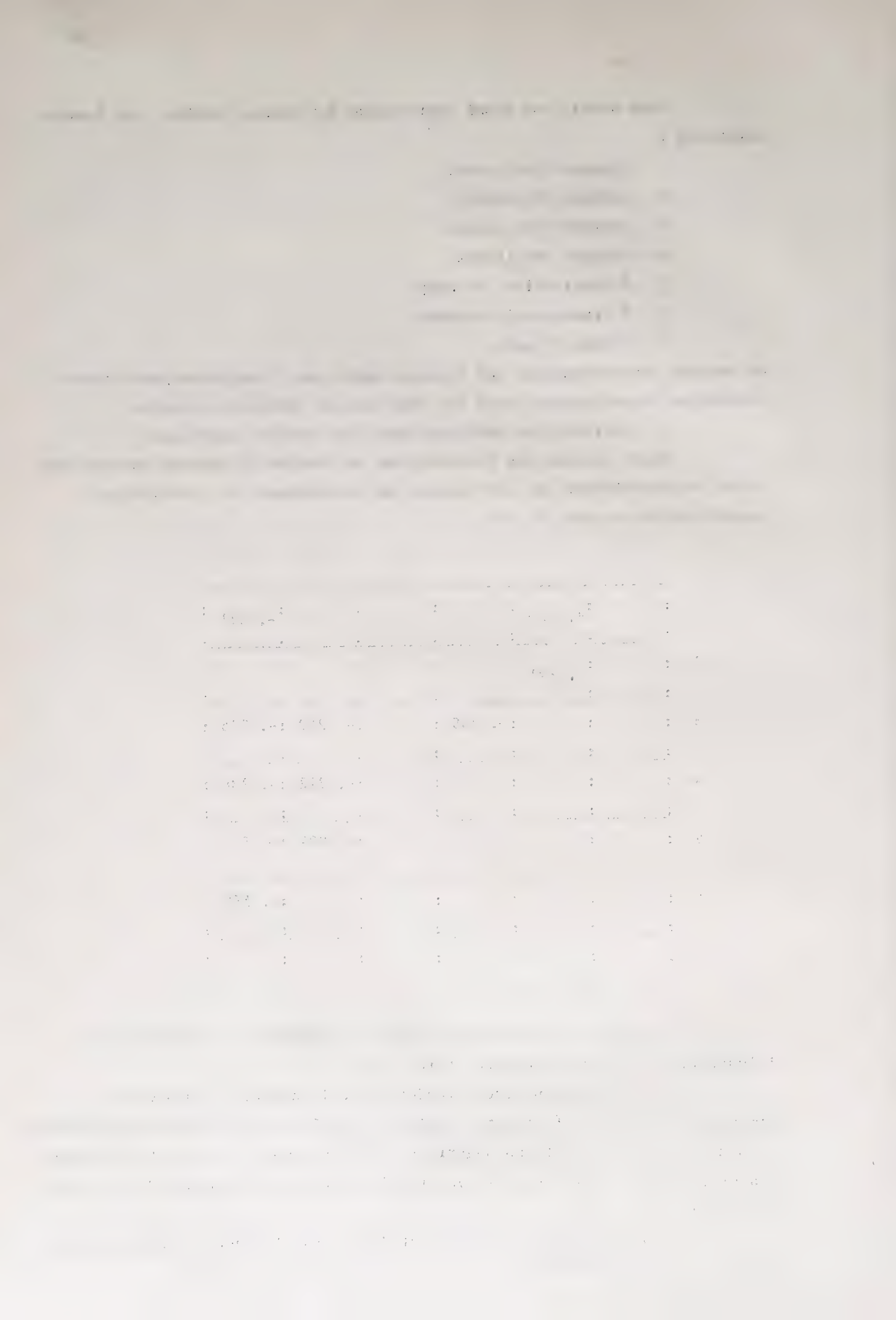
	2	3	4	5	6	7
1		+. 226				-. 321
2		+. 241				
3			+. 349		-. 252	-. 275
4					-. 212	-. 238
5					+. 827	+. 573
6						+. 598
7						

Ceci peut se résumer sous forme de diagramme (se rapporter aux illustrations en fin de mémoire, (Fig. 33).

Les corrélations très élevées entre le nombre d'oeufs et les dimensions des kystes (4 traits continus entre 5, 6 et 7) étaient prévisibles, de même que les corrélations négatives entre le nombre d'oeufs et la plupart des dimensions d'oeufs et de larves (traits interrompus partant du 7). Ceci indique :

a) plus le nombre d'oeufs est élevé dans le kyste, plus leur taille est réduite ;

.../...



b) plus la larve est longue, plus elle est large (trois lignes continues entre 3 et 4) ;

c) la largeur de la larve dépend des dimensions de l'oeuf (1, 2 et 3).

II - Nous avons cherché à exprimer au moyen d'une fonction de régression le nombre d'oeufs à partir de 6 mensurations indiquées. Une analyse progressive de la variance menée en déterminant l'ordre hiérarchique des variables à introduire dans la fonction, a permis de constater que la meilleure estimation du nombre d'oeufs était fournie grâce à la largeur du kyste et à la longueur de l'oeuf. Si l'on a déjà tenu compte de ces deux variables, la prise en considération des 4 autres n'améliore pas la précision d'estimation, ainsi que le traduit le tableau suivant :

Variation	Résiduelle		Relations Multiples			Dernière Variable		
Variable	degré liberté	Variance	degré liberté	Variance	F	degré liberté	Variance	F
	99	0,016181						
largeur kyste (6)	98	0,01050	1	0,57309	54,59	1	0,57309	54,59
largeur kyste + longueur larve (6,1)	97	0,00963	2	0,32875	34,14	1	0,09442	9,80
Toutes les variables (6,1,2,3,4,5)	93	0,00938	6	0,12190	13,00	4	0,01808	1,93

La loi de régression prend alors la formule suivante :

$\log x_7 = 12{,}253786 - 4{,}149289 \log x_1 + 0{,}831146 \log x_6$

x_7 = nombre d'oeufs ; x_1 = long. oeufs ; x_6 = Ø transv. kyste ;

x_1 est exprimé en µ et x_6 en mm.

Pour tester la précision de la formule, nous avons ignoré les nombres d'oeufs observés dans les kystes étudiés et nous avons essayé de les retrouver à partir des diamètres transversaux des kystes et de la longueur de ces oeufs. Le graphique ci-joint, qui traduit la dispersion des chiffres observés par rapport à ceux qui sont calculés, fait ressortir une assez bonne efficacité de cette équation surtout pour les valeurs du nombre d'oeufs situées autour du contenu moyen, (Fig. 34).

L'intérêt de cette formule pour d'autres populations de H. avenae et même pour d'autres espèces d'Heterodera devrait être confirmé car elle permet d'éviter le dénombrement du contenu des kystes (et permettant d'apprécier l'importance de l'inoculum en présence) qui exige un travail très fastidieux

.../...

et souvent inexact.

Cette relation apporte une précision non négligeable à celle indiquée par ANDERSEN (1961) qui trouve que le contenu de kystes identiques et normaux est constant. Or, on constate toujours une certaine variation dans le nombre d'oeufs de deux kystes de même taille et l'intervention de la longueur moyenne des oeufs permet de réduire l'erreur d'estimation.

Signalons cependant qu'il nous est arrivé de rencontrer dans une population donnée quelques kystes renfermant un nombre d'oeufs plus grand que leur taille ne le laissait prévoir et qui, de ce fait, ne suivaient pas la règle générale.

Finalement, bien que ceci n'ait pas fait partie de l'étude que nous venons de décrire, il semble qu'il y ait aussi une relation entre le nombre et la taille des oeufs, et la nature et la vigueur de la plante-hôte. Ainsi au cours de nos recherches sur la gamme d'hôtes cultivés ou spontanés, nous avons constaté, sans toutefois les chiffrer avec précision, des variations dans la taille du kyste selon l'espèce végétale parasitée.

5 - Les formes aberrantes.

Dans la population de Castelnaudary et dans certains élevages en microparcelles réalisés à Antibes, nous avons découvert des kystes en forme de cacahuète présentant une constriction médiane plus ou moins prononcée, (Fig. 35), la porportion de ces kystes était environ de 1 %, mais il y avait tous les intermédiaires entre la forme normale et cette forme aberrante. Parfois la déformation n'affectait qu'un seul des côtés du kyste ce qui lui conférait un aspect réniforme (voir photographies). Tous les autres caractères d'H. avenae étaient conservés. Les mensurations pour 10 de ces kystes, nous ont donné les valeurs suivantes :
Longueur sans le "cou" : 0,83 à 1,08 mm - diamètre maximum : 0,54 à 0,63 mm. Les mesures des oeufs et des larves étaient semblables à celles obtenues pour les kystes normaux. Nous avons pensé qu'il s'agissait simplement d'accidents mécaniques. Une lignification plus rapide des tissus végétaux pouvant gêner la croissance normale de la femelle et donner cette constriction, mais on peut aussi supposer qu'elle résulte d'une contusion occasionnée à la larve du second stade lors de sa pénétration ou bien plus tard. L'élevage en pots de ces formes aberrantes a donné des descendances normales. Nous avons pu voir sur une descendance d'une soixantaine de kystes que ce caractère n'est pas héréditaire.

.../...

F - DISCUSSION ET CONCLUSIONS.

Chez les Nématodes les sexes sont normalement séparés et tous les caractères sexuels primaires sont toujours présents. On peut compter dans ceux-ci : chez le mâle, le ou les testicules et les divers organes servant à l'accouplement (spicules et leurs muscles, gubernaculum, ailes caudales, papilles supplémentaires) ; chez la femelle, les ovaires, les oviductes, l'utérus, le vagin et la vulve. Par contre, en règle générale, le dimorphisme sexuel est très limité.

Parmi les espèces phytophages, on trouve toute une gamme de variations dans les caractères secondaires et c'est sans doute chez les Heteroderidae que le dimorphisme entre les deux sexes est le plus grand. Il atteint son maximum chez les Heterodera lors de la formation du kyste. De plus, comme nous l'avons montré, le développement de l'individu mâle chez les Heteroderidae passe par une phase de métamorphose que l'on ne connaît encore dans aucune autre famille de Nématodes.

Par contre, les différences morphologiques frappantes : obésité de la femelle et silhouette filiforme du mâle, se retrouvent à différents degrés dans quelques autres familles ou sous-familles telles que les Tylenchulidae (Sphaeronema, Tylenchulus,...) et Nacobbinae (Nacobbus, Rotylenchulus). Il arrive chez certains groupes que le mâle et même certaines larves (des deux sexes d'ailleurs) n'aient pas des moeurs phytophages, contrairement à la femelle adulte. On constate alors dans ces formes une régression du tube digestif et souvent le stylet disparaît complètement si bien qu'il ne reste chez l'adulte mâle que les organes génitaux. Ce phénomène est fréquent parmi les familles Tylenchulidae et Criconematidae. Ainsi le sexe affecte non seulement la morphologie de l'animal, mais aussi sa physiologie. Il ne semble pas, d'après nos expérienc s, que le mâle adulte de H. avenae se nourrisse, mais on ne constate aucune régression d'organes dans son tube digestif (sauf les glandes sous-oesophagiennes qui apparaissent peu marquées et apparemment non fonctionnelles).

Un autre caractère sexuel secondaire notable, a trait à l'armature céphalique : chez H. avenae et les Heteroderidae, en général, l'armature céphalique est bien formée chez le mâle alors qu'elle n'existe pratiquement pas chez la femelle. Cette différence n'est pas seulement connue chez les groupes qui présentent un fort dimorphisme sexuel et on l'observe aussi chez des Hoplolaiminae où elle constitue pratiquement un seul caractère sexuel secondaire.

En dernier lieu, on peut remarquer que les anneaux sont déformés et très altérés chez les femelles d'Heterodera par suite de la croissance

en largeur alors que l'annélation des mâles est fine et bien marquée. Chez les Criconematinae, au contraire, les anneaux des femelles qui rappellent de véritables segments ornementés semblent plus évolués dans le sens de la différenciation que ceux très fins des mâles.

Nous n'avons jamais trouvé d'intersexués chez H. avenae et il est encore trop tôt pour se prononcer sur le déterminisme des caractères sexuels germinaux, c'est-à-dire sur l'épigamie ou la syngamie.

L'inter-sexualité est connue chez les Nématodes non phytophages depuis longtemps. En 1923, STEINER mentionne ce phénomène, comme très courant chez les Mermithidae, chez les Nématodes libres tels que Trilobus et chez certains Nématodes marins. Récemment, SHAMIM JAIRAJPURI et SIDDIQI (1964) ont décrit un Dorylaimidae présentant des caractères des deux sexes, il s'agit de l'espèce Tyleptus striatus.

On connaît même quelques cas de renversement de sexe au cours du cycle évolutif, surtout chez des parasites d'insectes (Mermithidae). Ces phénomènes sont cependant rares chez les phytophages où l'on a pourtant signalé quelques cas : on a relevé des inversions de sexe en condition artificielle chez les larves de Meloidogyne javanica et certains mâles ont des caractères femelles (TRIANTAPHYLLOU, 1960). Des adultes inter-sexués se trouvent communément chez Ditylenchus triformis où certaines femelles possèdent des organes mâles (HIRSCHMANN et SASSER, 1955) ; le même phénomène a été aussi observé chez un Rotylenchulus (DALMASSO - communication personnelle). Finalement, ABOUL-EID et COOMANS (1966) ont signalé un cas semblable chez Longidorus macrosoma, phytophage et vecteur de virus. Toutefois, on ne sait si ce phénomène peut également se produire dans le genre Heterodera.

Enfin, l'identification du sexe n'est possible chez H. avenae qu'à partir du troisième stade avancé, ce qui correspond à ce que l'on sait pour les autres groupes. Chez certains Nématodes phytophages, la distinction peut se faire un peu plus tôt, citons à titre d'exemple le cas de Tylenchulus semipenetrans chez lequel les individus mâles et femelles sont séparables avec certitude dès le 2ème stade

.../...

CHAPITRE III - CARACTERES BIOLOGIQUES.

A - VITESSE ET DUREE DU DEVELOPPEMENT EN CONDITIONS CONTROLEES.

1 - Données générales.

Les grandes lignes du cycle biologique des Heterodera sont connues depuis longtemps, surtout pour certaines espèces. On peut les résumer de la façon suivante : après une période de latence de durée variable allant de quelques mois à plusieurs années, la larve infectieuse éclôt et, grâce aux conditions favorables du milieu, gagne l'extérieur du kyste, par une quelconque ouverture ou généralement par l'ouverture périnéale. Par des mouvements ondulatoires rapides, elle se glisse entre les particules du sol et atteint les racines d'un hôte dans lesquelles elle pénètre au niveau des poils absorbants ; elle se fixe alors parallèlement aux faisceaux vasculaires, la tête dirigée vers les parties aériennes du végétal, la queue vers l'extrémité de la radicelle. Devenue sédentaire, elle vit en endoparasite, se nourrissant grâce à son stylet. Après la 2ème mue, les larves grossissent progressivement, surtout en largeur, et suivent un développement différent selon leur sexe. Après avoir complété 4 mues, les individus atteignent le stade adulte et la femelle immobile et obèse sera fécondée par le mâle. Plus tard, après sa mort, sa cuticule s'étant indurée, donnera un kyste renfermant une nouvelle masse d'oeufs embryonnés.

La notion du développement en 5 stades chez les Heterodera mâles et femelles n'est pas apparue rapidement ; ainsi, STRUBELL (1888) et CHATIN (1891) donnent deux stades chez la femelle et trois chez le mâle pour H. schachtii. Il en est ainsi pendant une longue période qui s'étend jusqu'à 1933, année où GOODEY considère qu'il y a chez les Heterodera deux mues séparant trois stades.

Des travaux postérieurs rassemblés dans l'ouvrage publié en 1941 par FILIPJEV et SCHUURMANS-STEKHOVEN font mention de quatre stades. Des renseignements plus récents sur ce sujet sont rapportés par RASKI (1950) qui a réalisé un travail très complet sur le biologie de H. schachtii qui est l'espèce la plus voisine de H. avenae. Il a conclu à l'existence de 4 mues chez les deux sexes qui limitent parfaitement 5 stades. Les mêmes conclusions sont données par HAGEMEYER (1951) sur H. rostochiensis.

En ce qui concerne la durée totale du cycle chez les Heterodera, on connaît quelques travaux relatifs à certaines espèces sous conditions spéciales. Ainsi, RASKI (1950) indique que chez H. schachtii, des kystes bruns pleins d'oeufs embryonnés apparaissent dès le 39ème jour, après l'infestation (ceci à 19°C).

Un fait analogue est rapporté chez H. trifolii où, selon MULVEY (1958) une génération peut s'accomplir en 40 jours et avec H. lespedezae qui, d'après YUAN-PING (1963) parvient au stade femelle en 20-22 jours et pond dès le 36ème jour (ceci à 24°C). Il est nécessaire toutefois de signaler qu'il s'agit en général des espèces présentant plusieurs générations par an, ce qui n'est pas le cas d'H. avenae. En effet, d'après TRIFFITT (1930a), le Nématode de la betterave (H. schachtii), qui est l'espèce la plus voisine, réalise dans l'année au moins une génération complète et une seconde partielle. De même, les conditions d'observation (conditions du milieu et techniques utilisées) doivent être bien définies.

Ainsi TYLER (1933b) montre que la variation du seul facteur température peut conduire à des écarts spectaculaires dans la durée du cycle d'un Heteroderidae du genre Meloidogyne, qui passe de 25 jours pour 27°C à 87 jours pour 16°5. Cet auteur indique aussi une variation dans la durée du temps de repos entre les générations successives et trouve que le temps nécessaire pour le passage de l'oeuf à la larve infectieuse active est de 9 jours dans le premier cas et de 31 jours dans le second.

En ce qui concerne la biologie d'H. avenae, il n'existe pas de travaux approfondis aussi rigoureux, mais on sait par un certain nombre d'"approches" que l'accomplissement du cycle s'effectue en deux ou trois mois. SWARUP, PRASAD et RASKI (1964) indiquent que H. avenae complète son cycle sur maïs en deux mois en serre, mais à une température non précisée.

On a signalé, d'autre part, depuis longtemps qu'il n'existe qu'une seule génération annuelle. En effet, dès 1941, FILIPJEV et SCHUURMANS-STEKHOVEN l'indiquent comme un fait général dans tous les pays nordiques où ce Nématode est présent.

Pour préciser le cycle biologique de la population Lauragaise, d'H. avenae, nous avons entrepris une étude dont les conditions et les résultats sont développés ci-après.

2 - Etude des différentes phases du développement et de la reproduction

a - Ovogenèse et fécondation.

MULVEY (1959a et 1960b) considère que l'ovogenèse d'H. avenae est similaire à celle d'H. schachtii. Il décrit et illustre le processus de formation de l'oeuf de H. avenae depuis l'oocyte dans la zone germinative (il y en a deux chez les Heterodera). A l'apex de la gonade on trouve des oogonies qui se multiplient par mitoses, puis descendent dans le tractus de l'ovaire où elles augmentent de taille en devenant des oocytes. Ceux-ci d'abord disposés sur deux rangs, se placent bientôt sur un seul en raison de leur taille, et atteignent le niveau de la spermathèque. Celle-ci, sphérique et

assez développée, contient après la copulation un nombre élevé de spermatozoïdes, localisés à sa périphérie, contre la paroi. Le spermatozoïde est petit, rond et très réfringeant ; un point central très sombre qui constitue vraisemblablement son noyau est entouré d'une zone plus transparente de composition plutôt cytoplasmique. Il est à noter que l'étude de la spermatogenèse de cette espèce n'a pas encore été réalisée.

Lorsque l'oocyte, qui est ovale, traverse la spermathèque, la méiose est déjà avancée, la chromatine s'étant organisée pendant la prophase en paires de chromosomes. A la métaphase il y a l'individualisation des 18 chromosomes qui se sont rassemblés sur la plaque équatoriale du fuseau. C'est à ce moment qu'un spermatozoïde vient pénétrer l'oocyte à l'un de ses pôles. Selon MULVEY, cette pénétration ne s'effectue jamais latéralement et, apparemment, un seul gamête mâle tente de féconder l'oocyte. Il signale en plus que l'union des gamêtes ne se réalise pas immédiatement, mais le spermatozoïde (9 chromosomes) déjà dans le cytoplasme de l'oocyte demeure à la périphérie pendant que chez ce dernier les chromosomes se séparent en deux lots homologues qui remontent chacun à un des pôles du fuseau. Ensuite celui-ci effectue une rotation de 90° et entraîne 9 des chromosomes vers la membrane où ils constituent bientôt le 1er globule polaire. Toujours d'après les observations de MULVEY, on trouve alors 9 chromosomes dans le globule polaire et 9 en télophase dans le noyau de l'oocyte. Ce dernier lot de chromatine se réorganise rapidement, un second fuseau de forme et une mitose normale donne lieu à un 2ème globule polaire. Ce n'est qu'après la formation de ce 2ème globule polaire qu'il y a uninn des deux gamêtes et que le zygote se constitue avec 2 n = 18. Durant toute cette évolution, le fuseau demeure parfaitement visible et le cytoplasme est vacuolaire.

L'oeuf continue sa progression dans l'oviducte (Fig. 36,37) et franchit l'étranglement musculaire (nommé "sphincter" chez d'autres genres) qui sépare l'oviducte de l'utérus. C'est dans ce dernier que s'accomplira l'embryogenèse. Chez la jeune femelle on y trouve de nombreux oeufs, en chaîne, à divers stades de leur développement.

b - Embryogenèse.

L'étude a été réalisée sur des oeufs récoltés après dissection dans l'utérus des femelles blanchâtres. Nous sommes toujours partis d'oeufs au stade 2 blastomères que nous avons placés dans du liquide de "Ringer" sur une lame à concavité, de façon à effectuer les observations et les photographies à fort grossissement du microscope (x 500). Le déroulement de ce phénomène a été suivi à une température constante de 20°C et sur un même oeuf. Le "Ringer" était renouvelé plusieurs fois par jour.

.../...

Le point de départ (0 h.) était donné par la segmentation nette en deux blastomères : on peut d'ailleurs évaluer à plusieurs heures la durée du passage du zygote simple au stade de 2 blastomères (Fig. 38). Ce stade résulte d'une fissuration périphérique du cytoplasme de l'oeuf, suivi de la formation lente d'une membrane transverse qui cloisonne définitivement l'oeuf en deux parties de taille différente. Le plus grand constitue le pôle animal et la dissymétrie est d'autant plus marquée que l'oeuf est plus long que large. Progressivement, on assiste à un décollement des deux blastomères dont le cytoplasme est constitué par de gros globules qui leur confère un aspect en mosaïque (cet aspect du cytoplasme était déjà acquis par l'oeuf avant cette 1ère division et sera conservé pendant une grande partie de l'embryogenèse).

Au bout de 6 heures, on note le début d'une nouvelle division qui n'affecte que le blastomère animal dans le même plan que la segmentation précédente, c'est-à-dire transversalement et une membrane de séparation apparaît distinctement au bout de 10 minutes, (Fig. 39).

Au bout de 12 heures, une nouvelle division intervient, cette fois sur le blastomère végétatif, et on arrive ainsi au stade 4 blastomères.

Au bout de 17 heures, une nouvelle division affecte l'une des cellules végétatives, toujours selon un plan transversal, donnant ainsi le stade ; 5 blastomères, (Fig. 41).

Ces premières segmentations sont accompagnées des phénomènes suivants :

- Après chaque division et faisant suite à la fissuration périphérique du cytoplasme, de petits éléments hyalins ressemblant à des bulles apparaissent dans les angles vides dûs aux décollements des blastomères, mais vus dans l'espace ces éléments doivent avoir une forme annulaire. Cependant, quelquefois ces formations sont incomplètes et se présentent sur un seul côté, entre les deux blastomères. Nous pensons que ces "ceintures transparentes" sont liées à la différenciation des membranes entre les futurs blastomères. Lors de la formation de ces membranes et après séparation des lots de chromosomes, nous remarquons en effet, dans les "ceintures", une intense activité caractérisée par des variations de taille et de couleur comme si une substance plus dense s'y trouvait déplacée. Une fois la nouvelle membrane formée, ces structures s'aplatissent et disparaissent contre la paroi des blastomères.

- Pendant les divisions, on distingue très souvent les chromosomes sans qu'il soit toutefois possible de les compter. Le fuseau est également bien visible et on peut y suivre le migration des lots de chromosomes jusqu'au centre des nouveaux blastomères.

.../...

- Parfois la succession des divisions est moins progressive et celles-ci peuvent intervenir presque simultanément au cours des premiers stades.

- Il arrive aussi que les plans des premières divisions, au lieu d'être transverses, soient légèrement obliques.

Au stade des 5 blastomères, une des deux cellules situées au pôle animal glisse sur le côté et se range pour donner la forme de T qui, chez d'autres espèces de Nématodes, intervient dès le stade 4, (NIGON, 1965). Ce fait est général malgré parfois un léger retard dans la quatrième segmentation qui se produit alors presque simultanément avec la rotation du 5ème blastomère.

Au bout de 24 heures, une des 3 cellules d'origine végétative, se déplace et se met sur le côté et les 5 blastomères occupent ainsi un minimum de place.

2° jour - Les divisions continuent activement, nous avons encore pu voir deux nouveaux blastomères se former à partir des deux cellules centrales végétatives (Fig. 42, 43) ; mais après ce stade il devient difficile de suivre en détail toutes les divisions car l'activité se manifeste dans plusieurs plans simultanément et les blastomères deviennent de plus en plus petits. Les cellules végétatives paraissent toutefois posséder un pouvoir de segmentation plus élevé que celles du pôle animal. Pendant le 2ème jour, l'embryon passe par le stade 10 cellules, dont 8 sont groupées de manière assez compacte alors que les deux dernières (pôle animal) sont plus nettement individualiées. On a ensuite le stade 16 cellules, puis celui d'environ 24 cellules. Deux cellules situées vers le pôle animal conservent toujours leur individualisation des mouvements de rotation les animent sporadiquement (Fig. 44, 45, 46). Au pôle végétatif, la masse des blastomères intimement soudés ménage sur le bord du chorium une sorte de chambre. A ce stade du développement, on constate que le chorion est plus épais aux deux extrémités de l'oeuf où il prend une coloration ambrée.

3° jour - Les deux cellules individualisées paraissent plus claires tout en gardant comme les autres un aspect en mosaïque. Cette transparence relative n'est sans doute dûe qu'au contraste avec le reste plus compact de l'embryon. A ce moment une constriction de l'ensemble des éléments cellulaires sous-jacents a lieu juste sous ces 2 blastomères, ce qui donne à la masse segmentée une forme de "bouteille" couronnée par ces 2 cellules. Une de celles-ci glisse alors et ne sera jamais plus dans le même plan que l'autre.

Deux groupes de blastomères (dont le nombre n'est pas déterminable) se rangent à ce moment en paquets de part et d'autre d'une ligne sinueuse à peu près située au centre de l'embryon et traversant celui-ci dans le sens de la longueur. A la fin du 3ème jour les deux blastomères, jusqu'alors

.../...

individualisées, adhèrent davantage avec la masse générale, mais sans s'y perdre entièrement. Ils constituent ainsi à l'avant de l'embryon deux protubérances séparées par un espace assez grand. Ces protubérances sont respectivement animées de glissements de sens opposés et cela dans des plans différents ; de temps à autre, on a l'impression qu'elles changent de forme et, à la faveur des mouvements, on voit apparaître entre elles une petite bosse intermédiaire.

4ème jour - Peu de changements interviennent dans la forme générale, la structure de l'ensemble se maintient, mais les protubérances sont incorporées progressivement et totalement à la masse embryonnaire alors que les divisions se succèdent rapidement.

5ème jour - Le disposition en deux files disparaît et la segmentation surtout visible aux 2 pôles se poursuit, en même temps que l'espace vide a tendance à se remplir. Au pôle végétatif, la limite de l'embryon est bosselée, les multiples blastomères qui s'y trouvent donnent autant de petites protubérances. Il semble que l'on ait atteint le stade morula, mais déjà au centre et à l'intérieur, une différenciation très délicate dans l'aspect de quelques cellules indique le début du stade blastula, (Fig. 47).

6ème jour - La différenciation interne s'accentue et des cellules de nature nouvelle font leur apparition. Au début, il ne s'agit que d'une ombre allongée, arrondie au pôle végétatif et peu définie à l'autre extrémité. Par la suite, des lignes sinueuses viennent diviser cette zone en portions de forme et de taille variables. L'ensemble s'est contracté et les 2 vides des extrémités s'agrandissent.

7ème et 8ème jours - On se trouve en phase de gastrulation, (Fig. 48). La zone interne par ses sinuosités orientées de part et d'autre d'une "nervure" centrale donne à l'embryon une apparence de feuille et il existe deux types de cellules bien distinctes. STUBEL (1888) avait déjà observé ce stade chez l'embryon de H. schachtii et il considérait les 2 rangs de cellules internes comme des ébauches du mésoderme, le feuillet externe représentant déjà l'ectoderme. RASKI (1950) a illustré de la même manière le stade gastrula également chez cette espèce et NAGAKURA (1930) a relevé une évolution identique chez un Meloidogyne.

9ème jour - Lembryon reprend la silhouette élancée "en bouteille", cependant que son contour antérieur devient très vague. Peu après, il se contracte progressivement et la partie supérieure de la future larve s'individualise sous forme de replis formés du côté de l'ancien pôle végétatif, (Fig. 49). L'embryon devient très mobile, change sans cesse de position. On aperçoit pendant quelques temps, vers le milieu de l'ébauche, une masse

.../...

très obscure, circulaire dont on perd trace dès le 10ème jour. Nous ne savons quelle interprétation donner à cet organe qui, à notre connaissance, n'a jamais été signalé. Le canal central subsiste toujours et s'allonge en même temps que l'embryon ; il est entouré d'un tube de cellules sombres. L'embryon s'étire, principalement dans sa partie postérieure, et triple sa longueur avant la fin de la 9ème journée, ce qui l'oblige à se replier sur lui-même. Aucun détail anatomique de la future larve n'est encore visible. L'extrémité antérieure est relativement large, moins chargée en granulations que le centre du corps, la queue s'éclaircit progressivement et se termine en cône arrondi, (Fig. 50, 51, 52, 53).

10ème et 11ème jours - Pendant cette période, l'ébauche larvaire s'allonge toujours et sa mobilité n'est pas ralentie sauf à la fin du 11ème jour où intervient une phase de repos de plusieurs heures. Un nouveau type de cellules apparaît à la périphérie de l'ébauche, constituant une couche globuleuse, partiellement visible, qui fait vraisemblablement partie de l'ectoderme. Le contour de l'embryon paraît alors ondulé mais il ne s'agit pas d'une annulation. La partie terminale s'affine continuellement tandis qu'à l'avant apparaissent deux points brillants délimitant l'entrée du stoma de la larve. Plus postérieurement, le stylet s'esquisse sous forme d'un tube tourmenté, plutôt large, déjà muni des pièces basales, peu distinctes, mais très grandes, (Fig. 54, 55).

12ème et 13ème jours - Le stylet se "concentre" et devient nettement visible. Le bulbe musculaire se dessine ainsi que la limite de la partie antérieure de l'intestin (les glandes oesophagiennes situées entre ces deux organes ne se distingueront qu'au 2° stade larvaire, beaucoup plus tard). La cuticule s'organise depuis le 12ème jour, sous la couche globuleuse signalée 24 heures plus tôt. A la fin de cette période, de deux jours, on relève les premiers indices d'une mue. Cette mue, qui s'accomplit le jour suivant (14ème jour) lorsque l'individu a atteint sa taille définitive dans l'oeuf, marque la fin du 1er stade larvaire, (Fig. 56). Ce stade I est très bref, d'une durée difficile à délimiter avec certitude, mais on peut situer son commencement vers le 12ème jour lorsque le stylet et les divers autres organes sont déjà en place.

c - Développement post-embryonnaire.

- Larve du 1er stade.

Le développement embryonnaire se termine naturellement avec la formation de la larve du 1er stade. Toutefois, ce passage étant très progressif, nous avons préféré inclure le stade I dans le chapitre précédent, car la toute jeune larve emprisonnée dans le chorion, est assez difficile

.../...

à observer et, d'autre part, si on l'en dégage, son évolution est arrêtée.

La 1ère mue qui termine ce stade a été l'objet de controverses pour d'autres espèces d'Heterodera. Ainsi, STRUBELL (1888) et CHATIN (1891) l'avaient déjà décelée chez H. schachtii, mais ne la considéraient pas comme une séparation entre deux stades. Ce n'est qu'en 1950 que RASKI en révèle la nature réelle.

Chez H. rostochiensis, CHITWOOD et BUHRER (1946)indiquent qu'ils ne sont pas parvenus à la voir, mais plus tard HAGEMEYER (1951) réussit à la percevoir, complétant ainsi la description du cycle du Nématode doré. Il précise le déroulement de la mue, la formation des organes internes (en particulier l'armature céphalique) et divers autres points tout à fait comparables à ceux que nous avons observés chez H. avenae. En ce qui concerne H. trifolii, MULVEY (1959c) illustre aussi cette mue dans l'oeuf. Plus récemment YUAN-PING (1963) décrivant la biologie de H. lespedezae indique également que c'est la larve du 2ème stade qui s'échappe de l'oeuf, il a donc dû constater lui aussi la première exuvie à l'intérieur du chorion.

La mue dans l'oeuf est très controversée aussi chez les Meloidogyne. NAGAKURA (1930), CHRISTIE et COBB (1941) l'ont signalé chez Meloidogyne sp., mais, par contre, LORDELLO et ZAMIT (1958) ne décèlent aucune trace de son existence chez M. exigua.

Chez d'autres genres de Nématodes, ce phénomène est assez courant. Nous citerons, par exemple, le cas des Ditylenchus triformis étudiés par HIRSCHMANN (1962) et D. myceliophagus par CAYROL (1964). De plus selon HECHLER et TAYLOR (1966), certaines espèces de Seinura accomplissent aussi une mue dans le chorion : l'un d'eux S. oxura en effectue même deux.

Dans l'étude que nous avons réalisée sur H. avenae, cette mue s'accomplit entièrement durant le 14ème jour, ce qui nous permet, dans les conditions particulières déjà énoncées, de placer le début du 2ème stade larvaire 15 jours après avoir observé la 1ère segmentation dans l'oeuf. A ce moment, le Nématode possède déjà une nouvelle cuticule bien annelée, la tête ne porte encore aucune armature céphalique, mais elle prend un profil plus anguleux. Le stylet a pris sa structure définitive et on peut suivre la lumière du tube digestif dans la partie antérieure de l'oesophage, jusqu'à la valvule du bulbe musculaire. Les muscles moteurs du stylet se présentent de part et d'autre de cette pièce, mais ne sont pas bien définis. L'intestin est chargé de globules réfringeants éparpillés sur toute sa longueur et on peut discerner un orifice anal très fin. Les globules constituent sans doute les réserves de l'individu ; leur aspect est celui de lipoïdes. La queue est conique, allongée et en partie vide sous la cuticule.

Au cours des 16ème et 17ème jours on assiste à la formation de

l'armature céphalique et les divers organes larvaires acquièrent leur structure et leur aspect définitif. Durant toute cette période postérieure à la 1ère mue, l'animal a conservé une mobilité assez constante, changeant sans cesse de position. Progressivement, cette activité se ralentit et vers la fin du 16ème jour, la larve prend une position que nous appellerons : "Position de repos". Le Nématode est alors replié trois fois sur lui-même dans le chorion (c'est-à-dire qu'il est plié en quatre), la queue et la tête étant du même côté. Cette position ne change pas pendant le 17ème jour où seules les extrémités antérieures et postérieures de la larve sont animées de façon sporadique de mouvements de faible amplitude, (Fig. 57).

Au 18ème jour, le stylet reste la seule pièce montrant encore une certaine mobilité, mais bientôt toute l'activité cesse et la larve de 2ème stade est plongée dans une phase de repos de longue durée qui constitue une vraie diapause. Ainsi, dans les conditions de l'expérience, le passage de la première segmentation de l'oeuf à la larve en diapause du 2ème stade, nécessite 18 jours.

L'ensemble de cette évolution suivie de manière continue a été confirmée par de multiples observations faites sur du matériel provenant de femelles d'âge connu après qu'elles aient été disséquées. Il faut noter que les larves formées dans chaque kyste bien qu'apparaissant être du même stade de développement morphologique et anatomique, n'ont pas entre elles le même degré de maturité physiologique, probablement en raison de l'échelonnement de leur formation. Ce phénomène complexe qui n'a pas été abordé, a probablement une grande importance car il est lié à l'installation de la diapause du 2ème stade qui, nous le verrons plus loin, conditionne en grande partie la survie et la dispersion de cette espèce.

Etant donné qu'une partie seulement des oeufs provenant d'un même kyste éclôt à chaque période d'activité, il semble que cette phase de repos, si elle ne s'étend que sur quelques mois pour certaines larves, puisse durer plusieurs années pour d'autres. Ainsi dans la majorité des kystes récoltés dans la nature en dehors des périodes d'activité, on ne trouve que des chorions contenant des larves de 2ème stade, toutes en "position de repos". Cette diapause permet à la larve de survivre en présence de facteurs défavorables : sécheresse, et température estivale élevée particulièrement prononcées dans le Lauragais où vit la souche étudiée.

L'étude de la diapause sera détaillée plus loin.

En conclusion, le second stade larvaire chez H. avenae, comporte trois phases très différentes l'une de l'autre. La première de ces phases est une période de formation terminant l'embryogenèse où la larve est active comme

.../...

au cours du ler stade. La phase intermédiaire de diapause est caractérisée par son immobilité et constitue une étape nécessaire. Les deux ont lieu alors que la larve est encore à l'abri dans la membrane de l'oeuf. La dernière marque le début de la vie active et parasitaire de l'espèce et est représentée par la larve infectieuse mobile qui s'échappe de l'"oeuf" lorsque les conditions sont favorables.

- Larve infectieuse (fin du 2ème stade) (Fig. 58 A)

Une fois libérée, la larve infectieuse erre dans les pores du sol de la couche arable, jusqu'à ce qu'elle rencontre la racine d'une graminée hôte dans laquelle elle pénètre. Cette phase libre de la larve de second stade des Heterodera a été étudiée sous plusieurs aspects chez quelques espèces dont H. avenae. Ainsi WALLACE (1955, 1956a et 1958a) montre comment la larve se meut et indique les facteurs qui conditionnent ces déplacements lors de la recherche d'une racine hôte.

On ne sait pas avec exactitude si la larve recherche effectivement son hôte ou si elle erre au hasard et trouve ainsi les radicelles. D'après FILIPJEV et SCHUURMANS-STEKHOVEN (1941) H. avenae peut localiser les racines des graminées ; une certaine attraction a été mise en évidence par WALLACE (1958b), dans des conditions très spéciales.

Il n'y a pas eu de recherches sur l'invasion proprement dite des tissus radiculaires de l'hôte par les larves d'H. avenae. Il en existe cependant pour H. rostochiensis dont une brève revue peut être intéressante dans le cas présent. DROPKIN (1957) a montré qu'un taux de 80 % des pénétrations est atteint dès la fin du 2ème jour ; simultanément il note que le caractère infectieux est indépendant de la quantité d'inoculum et que chaque larve utilise un point distinct pour entrer dans les tissus de l'hôte. Il montre aussi que le pouvoir infectieux diminue dans le temps qui suit l'éclosion, ainsi au 7ème jour 71 % des larves conservées dans l'eau sont encore capables de devenir parasites alors qu'au 21ème jour il n'y en a plus que 17 % qui y parviennent. Finalement DROPKIN conclut que l'invasion de l'hôte est sous la dépendance de trois groupes de facteurs qui sont :

- Des facteurs propres à l'espèces,
- des facteurs propres à la plante,
- l'environnement.

Nous reprendrons cette question avec plus de détails dans le chapitre concernant les relations hôtes-parasites.

Au cours de notre étude sur la biologie d'H. avenae, nous avons remarqué que la larve a besoin d'un appui solide pour s'enfoncer dans les tissus végétaux, ce qui empêche d'observer directement dans l'eau le mode et la durée de la pénétration.

.../...

Pour cette raison, nous avons suivi le développement ultérieur dans le végétal en utilisant des plantules de blé dur de la variété Bidi 17 infestées artificiellement dans du sable selon les techniques déjà décrites. Le moment de la pénétration pour une larve ne peut être apprécié qu'à quelques heures près et les variations observées dans le degré de développement ultérieur des larves dans un même végétal témoignent sans doute d'un décalage dans l'infestation.

Ce n'est que 4 jours après l'infestation que l'on commence à trouver aisément des larves endoparasites, toujours du 2ème stade, dans les racines. Dans tous les cas, nous avons constaté qu'elles étaient déjà profondément engagées, mais celles qui l'étaient moins, pouvaient avoir été perdues lors du lavage du système radiculaire précédant l'observation. Ainsi à une période de grande mobilité, pendant laquelle la larve vit encore sur les réserves, succède une vie sédentaire et parasite ; de sorte que la 3ème phase du 2ème stade larvaire ne constitue pas sur le plan biologique une étape homogène dans la vie du parasite.

- Le 3ème stade (Fig. 58B) est atteint 9 jours après l'infestation et la mue correspondante - abandon de la cuticule précédente - peut durer jusqu'au 12ème jour. La distinction du sexe est possible dès le 16ème jour grâce à la forme de l'ébauche génitale. A partir de ce stade, la comparaison entre le développement des femelles et des mâles montre que pour atteindre l'état adulte, l'évolution des derniers est légèrement plus rapide. Ce développement doit être considéré séparément, (Fig. 58 C.F).

- Fin du développement des larves mâles.

Au 18ème jour de vie hors de l'oeuf, la larve mâle du 3ème stade commence à se contracter dans sa cuticule ce qui annonce l'approche de la métamorphose que nous avons précédemment décrite (Fig. 58 G). Ce décollement a la valeur d'une mue, bien que l'individu ne se débarrasse pas de la cuticule du 3ème stade. Pendant toute la métamorphose le contour du Nématode lui-même reste indéfini. Peu à peu il prend sa silhouette filiforme (enroulée) qui est définitivement acquise le 23ème jour. A ce moment, en raison peut-être des mouvements de l'animal, la membrane qui le renferme glisse lentement hors du végétal et bientôt le "cou" constitue le seul point d'attache (Fig. 59, 60). Entre le 23ème et le 25ème jour, la cuticule définitive et les divers organes de l'adulte mâle se différencient : jusqu'alors aucun détail anatomique n'était visible à l'exception d'une longue ébauche génitale où, dès le 23ème jour, on pouvait distinguer des spermatozoïdes. C'est également à ce moment qu'apparaissent les spicules qui se forment à partir de deux points très réfringeants situés antérieurement et à quelque distance de

.../...

l'anus ; ils s'étendent ensuite vers celui-ci et le gubernaculum se différencie à partir d'une tache sombre assez importante ; peu à peu ces pièces deviennent très distinctes et l'anus, un moment très visible, s'atténue et se rétrécit. L'armature céphalique se dessine en dernier après que le stylet se soit formé, (Fig. 58 H).

On peut libérer le mâle de l'enveloppe qui l'entoure à partir de ce 25ème jour sans qu'il en résulte pour lui aucun inconvénient majeur. D'ailleurs, à ce stade du développement, l'enveloppe est devenue très fragile et le moindre contact entraîne sa déchirure. Cependant, les premiers mâles ne se dégagent normalement de leur hôte qu'à partir du 28ème jour et au 35ème tous les mâles ont atteint leur complète maturité et se sont échappés dans le sol. On ne sait pas encore exactement comment l'animal déchire la membrane qui l'entoure, selon certains, il utiliserait son stylet, mais il est possible que les frottements externes auxquels les mouvements vigoureux de l'individu soumettent cette membrane soient suffisants pour le libérer (Fig. 58 I). Le mâle survit alors environ une semaine apparemment sans se nourrir dans le sol, puis meurt après avoir parfois fécondé une femelle. Il faut souligner qu'un fait remarquable du développement des mâles est l'utilisation des réserves pendant une grande partie de celui-ci puisqu'ils ne sont parasites et aptes à se nourrir que durant une brève période (fin du 2ème stade et 3ème stade larvaires). Ces réserves doivent être importantes car l'activité de l'animal est très élevée.

L'étude du passage du 3ème stade larvaire à l'état adulte chez le mâle montre un phénomène très remarquable qui semble général dans la famille des Heteroderidae. Il y a en effet une modification morphologique et anatomique très spectaculaire entre la larve du 3ème stade et l'adulte dont la biologie est aussi très différente.

Il s'agit réellement d'une métamorphose puisqu'on peut distinguer lors du stade préadulte une phase d'hystolyse suivie d'une phase d'hystogenèse. L'ensemble de ce phénomène n'est pas sans rappeler ce qui se passe chez les insectes holométaboles. Il est intéressant de noter l'existence d'un tel phénomène chez un groupe considéré comme aussi peu évolué que celui des Némathelminthes où il demeure néanmoins très exceptionnel.

Nous avons déjà signalé l'absence de la 4ème mue dont nous n'avons jamais trouvé trace chez un spécimen vivant après avoir suivi minutieusement le déroulement de la phase douteuse sur plus de 100 individus dont quatre examinés sans discontinuité pendant toute la durée de la métamorphose. La

.../...

cuticule pourrait toutefois être très fine et être emportée lors de la sortie du mâle ne laissant aucun résidu dans l'exuvie du 3ème stade, mais nous n'avons jamais vue de mâle libre abandonnant une quelconque dépouille.

Nous devons signaler qu'il est courant d'observer sur le matériel tué à la chaleur, fixé au FA 4/10 et monté à la glycérine par la méthode rapide de SEINHORST, une membrane périphérique décollée des tissus. Cette membrane qui peut faire penser à une mue est probablement la cuticule définitive détachée artificiellement lors du processus de montage de ces spécimens. Cet artefact qui a été constaté entre la fin du 3ème stade et l'état adulte à tous les échelons de la métamorphose est encore plus net chez les individus presque adultes où l'on remarque des déformations liées à une contraction interne des tissus, surtout dans la région céphalique. Pourtant cette 4ème mue est considérée actuellement comme un phénomène habituel chez tous les mâles des genre Heterodera et Meloidogyne, nous-même nous l'avons constaté chez H. rostochiensis et H. punctata. On peut donc penser que cette mue, si elle existe, est plus atténuée chez certaines espèces que chez d'autres et ce serait alors le cas pour H. avenae.

Il faut d'ailleurs noter que plusieurs auteurs ont eu des difficultés où ne sont pas parvenus à voir cette quatrième mue chez des Heteroderidae : BESSEY (1911) ne la trouve pas chez Meloidogyne sp., contrairement NAGAKURA (1930) et CHRISTIE et COBB (1941) indiquent qu'immédiatement après l'élaboration de tous les organes, la larve mâle mue une 4° fois et donne enfin l'adulte encore emprisonné dans deux enveloppes.

Tous ces auteurs ont travaillé sur du matériel mort et monté selon différentes techniques, BIRD (1959) qui a travaillé avec du matériel vivant (avec Meloidogyne sp.) n'est pas très affirmatif au sujet de cette mue. Il dit textuellement "and there was some evidence of the final moult".

- Fin du développement des larves femelles.

La 3ème mue a lieu aux environs du 25ème jour après l'infestation et le 4ème stade caractérisé par la croissance en largeur de la future femelle, dure de 6 à 8 jours pendant lesquels les femelles adultes apparaissent après avoir réalisé leur 4ème et dernière mue. Celles-ci continuent à apparaître pendant deux semaines pendant lesquelles on suit la formation de la matrice et l'accouplement. Ces femelles conservent leur teinte blanchâtre durant encore 1 mois et demi à deux mois et pendant cet intervalle, grâce à des dissections quotidiennes, nous avons pu suivre l'évolution des oeufs : un délai de 25 jours est nécessaire pour les trouver dans l'utérus à toutes les phases du développement embryonnaire (c'est-à-dire jusqu'à l'état de larve du 2ème stade déjà en diapause). L'ovogenèse et l'embryogenèse se

se poursuivent encore durant une période que nous n'avons pu évaluer avec certitude : l'obscurcissement du kyste interviendra trois mois et demi après l'infestation, mais il est difficile de dater le moment précis où la femelle meurt. Quatre mois après l'inoculation, les femelles sont devenues des kystes bruns, la matrice a disparu et la couche sub-cristalline est présente, (Fig. 58 E).

TABLEAU RECAPITULATIF DU DEVELOPPEMENT DE H. avenae (dans les conditions définies ci-dessus)

	STADE DU DEVELOPPEMENT	DUREE DU STADE
Intervalle commun.	du zygote à la gastrulation	7 à 8 jours
	de la gastrulation à la 1ère mue	6 à 7 jours
	de la 1ère mue à la diapause	3 à 4 jours
	diapause	temps indéterminé (plusieurs mois au moins)
	de la pénétration des individus du 2ème stade à la 2ème mue.	5 à 7 jours
Mâle	de la 2ème à la 3ème mue	6 à 9 jours
	métamorphose (stade préadulte)	10 jours
	mâle adulte	7 à 10 jours
Femelle	de la 2ème à la 3ème	13 à 16 jours
	de la 3ème à la 4ème mue	6 à 8 jours
	de la jeune femelle au kyste	45 à 60 jours

En comparant ceci à ce qui se passe chez d'autres espèces, on constate que si le processus est le même, il existe une grande différence dans le temps que requiert son accomplissement. Ceci montre qu'au sein du genre Heterodera, H. avenae est une espèce à développement lent même en ne tenant pas compte de la diapause.

B - ETUDE PARTICULIERE DE LA FECONDATION.

1 - Description du phénomène.

La femelle devenue complètement sédentaire depuis la fin du 2ème stade larvaire achève son développement dans les tissus de l'hôte d'où elle émerge progressivement en même temps que s'accroît son obésité ; c'est la

.../...

région périnéale qui apparaît la première et, simultanément, la "matrice gélatineuse" est secrétée autour de la vulve. C'est donc le mâle très actif qui rejoindra la femelle à ce stade, pour la féconder, assurant ainsi la multiplication de l'espèce.

Cependant, nous ne pensons pas que le mâle, malgré sa grande mobilité, soit capable de parcourir de grandes distances, par exemple de plante à plante quand les racines ne sont pas imbriquées pour atteindre la femelle, et il nous semble qu'il reste dans une zone assez restreinte près de l'endroit d'où il s'est échappé de la racine. Il y a quand même de nombreuses chances d'accouplement car les mâles et les femelles se développent normalement côte-à-côte dans un même point de la racine attaquée et ce rassemblement favorise leurs rencontres ; celles-ci sont peut-être facilitées par une attraction que nous n'avons pu mettre en évidence et pour laquelle la matrice pourrait jouer un rôle.

Indépendamment de l'attraction, la matrice a d'après nos observations une très grande importance comme support permettant au mâle de s'accrocher à la femelle. En effet, il est courant d'observer en période d'activité, le mâle qui se débat de façon désordonnée dans cette substance gélatineuse, avec les spicules déjà en partie sortis. Nous pensons donc que lors de l'accouplement le mâle doit s'enfoncer au sein de la matrice pour pouvoir introduire les spicules dans la vulve.

Il ne nous a été donné q'une seule fois de suivre un accouplement, le mâle introduit complètement ses spicules et la queue est soudée étroitement au périnée de la femelle, la durée du processus n'a pu être établie avec certitude ; cependant, elle paraît déjà bien supérieure à la journée.

Les spermatozoïdes migrent dans les voies génitales de la femelle, ils remplissent l'utérus jusqu'à la spermathèque qui en est littéralement bourrée et qui, après un certain temps, sera le seul organe à les conserver.

Nous n'avons pas pu établir si la même femelle était fécondée par différents mâles, mais il est fréquent de découvrir deux ou trois mâles emprisonnés dans la matrice d'une même femelle, (d'après HESLING, (1965), ce fait est très courant chez les Heterodera en général).

Le contraire, c'est-à-dire la fécondation de plusieurs femelles par un seul mâle apparaît très improbable car le mâle ne semble plus capable de se libérer de la matrice gélatineuse dans laquelle il doit finir par mourir épuisé.

Pour la population étudiée, la fécondation a lieu très tôt dans tous les cas. Ces observations infirment l'opinion d'ANDERSEN (1961) selon laquelle la fertilisation des femelles d'H. avenae au (Danemark) n'intervient qu'après que celles-ci soient parvenues au stade kyste. On peut penser que cet auteur a voulu parler de stade adulte et n'a fait qu'utiliser improprement

.../...

le terme kyste. Une preuve supplémentaire du fait que l'accouplement doit se réaliser chez de très jeunes femelles nous a été fournie par la présence d'oeufs embryonnés chez celles-ci, ; or, comme nous le verrons, cette production d'oeufs embryonnés est conditionnée par la fécondation.

2 - Nécessité du mâle dans la reproduction.

Chez la plupart des espèces de Nématodes, la reproduction s'effectue de façon sexuée, mais la parthénogenèse est un phénomène assez courant chez certains groupes. Depuis 1900, MAUPAS a longuement étudié et décrit la parthénogenèse chez les Nématodes libres et plus spécialement chez les Rhabditis et celle-ci a été démontrée chez les Meloidogyne et chez quelques espèces d'Heterodera. Dans le genre Meloidogyne, la reproduction par parthénogenèse a été étudiée par BYARS (1914), GABRIEL (1926), TYLER (1933a) et par beaucoup d'autres. D'après ces travaux, il semble que ce phénomène soit assez courant.

Pour les Heterodera, jusqu'à ces dernières années, la seule espèce parthénogénétique que l'on connaisse est H. trifolii. MULVEY (1958) a obtenu 10 générations successives en partant d'une seule larve infectieuse pendant lesquelles il n'a jamais observé de mâles. Selon ses observations cytologiques il s'agit d'une espèce triploïde à parthénogenèse de type diploïde ; c'est-à-dire qu'il n'y a pas réduction chromatique dans la méiose et qu'un seul globule polaire est émis.

Dernièrement, HIRSCHMANN et TRIANTAPHYLLOU (1965) signalent avoir obtenu par parthénogenèse la reproduction de quelques populations de H. galeopsidis et H. lespedezae, en plus de H. trifolii déjà connu comme présentant ce phénomène.

Chez H. avenae, l'importance du mâle a déjà été mise ~~en relief~~ par ANDERSEN (1961) qui arrive à la conclusion que sans la présence de celui-ci, la femelle ne produit pas d'oeufs et le kyste reste vide. En 1965, en s'appuyant sur cette nécessité pour la pérennité de l'espèce, il a pu étudier la nature de l'hérédité par des croisements entre des races. Un comportement identique a été observé chez H. rostochiensis par ELLENBY (1957), WILLIAMS (1957) et FASSULIOTIS (1957) qui signalent toutefois la formation légèrement retardée du kyste chez les femelles non fécondées. DEN OUDEN (1960), dans un travail plus complet sur cette espèce, confirme ces observations et ajoute que les kystes vides sont de forme ellipsoïdale et non sphérique, comme cela est normal.

L'importance que revêt l'étude de la parthénogenèse chez les espèces d'Heterodera est développée par TOXOPEUS (1956) au sujet de H. rostochiensis. Selon cet auteur, une variété de pomme de terre résistante à ce Nématode peut sélectionner un biotype à partir de quelques kystes capables d'accomplir

leur développement sur cette variété. La constitution d'une nouvelle population dangereuse où prédominerait un type "agressif" se trouverait accélérée par une reproduction parthénogénétique. Si, par contre, l'espèce se multiplie de façon sexuée, le nouveau "biotype" se multipliera plus difficilement en raison de la nécessité d'une fécondation par un mâle possédant aussi ce caractère agressif. Ceci implique que le mâle soit à maturité en même temps que la femelle et qu'il soit bien fertile. Les probabilités pour qu'un mâle s'accouple à une femelle du même "biotype" sont assez réduites, car dans une population les mâles possédant ce nouveau caractère d'agressivité se perdent dans la masse des mâles normaux et n'ont que très peu de chance de féconder une femelle génétiquement semblable. La nature des caractères génétiques intervient évidemment, car si le caractère d'égressivité est dominant, la nouvelle race pourra s'implanter beaucoup plus aisément. Ces faits qui sont très généraux pour n'importe quel groupe animal, prennent une importance beaucoup plus grande chez les Nématodes où la mobilité est très restreinte. Cependant, il faut ajouter que les espèces à reproduction sexuée dont fait partie H. avenae ne sont pas moins dangereuses que celles qui se multiplient parthénogénétiquement, elles le sont tout simplement d'une façon différente. Leur pouvoir d'adaptation génétique est plus riche et leur nocuité peut se diversifier beaucoup plus largement, même si le phénomène est plus lent.

Ceci explique que nous ayons voulu connaître le rôle exact des mâles trouvés en grande quantité dans la population Lauragaise d'H. avenae. Après la pénétration des larves infectieuses, les racines de l'hôte débarassées des particules adhérentes sont mises dans une solution nutritive, les mâles quittent alors les racines et, incapables de nager, tombent au fond du récipient. De la sorte, nous pouvons obtenir des femelles non fécondées, puis suivre leur évolution. Les femelles se sont normalement développées mais les kystes obtenus de cette sorte se sont montrés invariablement vides. Nous avons pu constater en effectuant des dissections successives, que la production d'oeufs ne se déclenchait pas malgré l'existence d'ovaires parfaitement constitués. Plus tard, il ne reste des gonades qu'une petite masse desséchée et collée contre la paroi interne du kyste. Celui-ci est vide, il n'a ni le volume, ni la fermeté d'un kyste normal rempli d'oeufs.

Nous avons aussi réalisé une expérience permettant d'éliminer l'influence possible du milieu liquide qui aurait pu inhiber l'activité des gonades femelles. Après avoir opéré comme ci-dessus pour obtenir la libération des mâles et la non-fécondation des femelles, les plantes ont été replacées dans un sable normal. Inversement, des plantes infestées ont été mises sur la solution nutritive après fécondation des femelles. Ainsi, il est apparu que dans le ler cas, il y avait production de kystes vides, ce qui confirme

.../...

nos précédentes données ; dans le second cas, des kystes normaux bourrés d'oeufs étaient différenciés. Ceci montre bien qu'il ne peut y avoir dans la souche utilisée de développement parthénogénétique et que le mâle est donc indispensable.

Le processus cytologique de la fusion des gamètes n'a pas été étudié et l'on ne sait si dans cette population il y a amphimixie ou pseudogamie. Toutefois, MULVEY (1960) a montré qu'il y avait toujours une fusion effective des noyaux chez l'espèce voisine Heterodera schachtii et indique que le phénomène est le même chez H. avenae.

On peut aussi constater, à la suite de ces expériences, que le développement morphologique de la femelle n'est altéré en aucune manière du fait de l'absence de fertilisation par le mâle.

3 - Sex-ratio et exemple de taux de prolifération.

Beaucoup de nématologistes considèrent que chez les Heteroderidae le sex-ratio dépend de quelques facteurs externes. TRIANTAPHYLLOU et HIRSCHMANN (1959) rapportent que chez Meloidogyne incognita et M. javanica le nombre des mâles augmente sous conditions "défavorables" pour la culture attaquée. Chez les Heterodera, MOLZ (1920) note que pour H. schachtii la proportion des femelles s'accroît avec une fertilisation azotée à forte dose et de manière générale quand la végétation de l'hôte est favorisée. Par contre, le phénomène inverse se produit dans tous les cas où la plante se développe mal, ce qui peut provenir d'une concurrence nutritionnelle des parasites. Chez H. rostochiensis, ELLENBY (1954) et DEN OUDEN (1960) observent que la proportion des mâles augmente avec la densité de la population des racines et suggèrent qu'une larve peut devenir mâle ou femelle selon les conditions externes et probablement en fonction de la quantité de nourriture disponible. LINDHART (1960) rapporte des faits semblables chez H. avenae. Cette opinion sur le déterminisme des sexes est également acceptée par C.D. GREEN (communication personnelle) dont les recherches portent précisément sur la variation du sex-ratio en liaison avec le niveau de l'infestation chez divers Heterodera.

Nous n'avons pas effectué chez H. avenae des recherches approfondies sur ce sujet, mais l'expérience décrite précédemment, quant au rôle du mâle nous donne quelques informations sur ce point précis de la biologie du Nématode des céréales. La technique employée pour l'étude de la reproduction de H. avenae diffère de celle généralement utilisée lors de travaux similaires, chez d'autres espèces d'Heterodera ou de Meloidogyne et qui consiste à inoculer chaque plante à l'aide d'une seule larve infectieuse. Ce procédé valable pour étudier une multiplication parthénogénétique ne peut être

.../...

envisagé pour évaluer le sex-ratio. Il n'est pas possible , en effet, de connaître le pourcentage des larves qui réussissent à pénétrer dans une racine et, si les kystes sont relativement aisés à dénombrer, les mâles échappent, par contre, au recensement.

Ainsi la technique que nous préconisons (voir description détaillée au chapitre I) peut être adoptée aussi bien pour l'étude du mode de reproduction de l'espèce que pour celle du sex-ratio. Moins laborieuse et plus rapide, elle permet, avec un minimum de place et de matériel végétal, d'étendre l'observation à un grand nombre d'individus et à des populations différentes (par leur densité, leur localité d'origine, leurs hôtes,.etc...). De plus cette technique nous permet d'estimer le pourcentage de larves envahissant les tissus de l'hôte dans les conditions de l'expérimentation et de connaître la proportion exacte des mâles et des femelles qui se sont développés.

Ainsi dans notre étude, pour une infestation globale de 500 larves par plante, nous avons obtenu sur 10 répétitions, de 22 à 35 kystes (moyenne 28 par plante) et de 68 à 113 mâles (moyenne 76 par plante). Il est toutefois techniquement très difficile de connaître la proportion des larves qui n'achèvent pas leur développement bien qu'elles aient pénétré dans les racines de l'hôte. Ces chiffres donnent un sex-ratio comportant 70 % de mâles et 30 % de femelles, dans nos conditions expérimentales.

Cependant les résultats que nous avons recueillis sur le sex-ratio d'H. avenae sont assez limités et demanderaient à être complétés. Nous n'avons pas fait varier la quantité d'inoculum dont nous venons de constater l'importance.

Finalement, nos observations dans la nature nous ont permis de conclure que le nombre de mâles trouvés augmente au fur et à mesure que la période d'activité approche de son terme. Ceci concorde avec les d verses informations rassemblées à ce jour et met en évidence toute la complexité du problème avec l'influence possible de facteurs tels que l'âge du végétal, son état physiologique et sanitaire qui peut s'altérer au cours de l'attaque, l'intensité de cette attaque, etc...

Quant au déterminisme du sexe, rien n'est encore démontré de façon absolue car cette influence du milieu où vit l'espèce peut n'être qu'apparente et masquer une origine génétique du déterminisme du sexe. Nous penchons d'ailleurs vers cette dernière hypothèse car bien qu'ayant manipulé une grande quantité de matériel vivant, nous n'avons jamais remarqué une inversion de sexe chez la larve de H. avenae qui aurait pu nous indiquer que le sex-ratio dépend des conditions externes et non des caractères inhérents à l'espèce.

.../...

Pour en revenir au rôle que revêt l'alimentation dans la détermination du sexe, on peut souligner que les différences du comportement du mâle et de la femelle favorisent le mâle dans le cas d'une surpopulation puisque celui-ci, qui ne se nourrit que durant une brève période sur l'hôte (fin du 2ème et 3ème stade), lui est beaucoup moins assujetti. Ainsi la surpopulation interviendrait dans la sélection du sexe des individus survivants et non dans sa détermination. L'expérience de TYLER (1933a) qui signale, en effet, qu'après des ré-infestations successives d'une même plante avec Meloidogyne sp., il a obtenu une augmentation de la proportion des mâles au fur et à mesure du déroulement de l'expérience, vient à l'appui de cette explication.

C - ECLOSION DES OEUFS ET ETUDE PARTICULIERE DU PHENOMENE DE DIAPAUSE.

1 - Généralités.

En décrivant la biologie de chaque stade du développement d'H. avenae, nous avons signalé que chez la larve du second stade encore enfermée dans le chorion, il existe une période de dormance qui semble être une vraie diapause. Cette léthargie est apparemment nécessaire pour que la larve devienne active, libre et infectieuse.

GOFFART (1939) avait déjà rapporté ce phénomène chez la larve de H. avenae, notant que celle-ci n'est effectifement mûre que 9 mois après sa formation et qu'elle ne peut éclore qu'une fois ce délai nécessaire écoulé. ANDERSEN (1961) relève qu'au Danemark cette phase de maturation demande une année.

Un phénomène analogue, mais moins prononcé, se manifeste chez H. schachtii et chez d'autres espèces. Selon BAUNACKE (1922) qui a étudié les effets de la température sur la larve "en repos", l'animal survivrait dans cet état grâce à ses réserves.

Dans la même famille, chez le genre Meloidogyne, BESSEY a également détecté dès 1911 une période de repos larvaire allant jusqu'à 15 mois dans l'oeuf pondu par la femelle, mais on ne sait exactement sur quelle espèce il a travaillé. D'autres cas analogues ont été signalés dans ce même genre, mais il semble que l'on puisse se trouver en présence de fausses diapauses car, souvent, les générations se succèdent rapidement.

Il existe peu de documents sur les "réserves" qui permettent aux larves d'Heterodera de survivre sous les conditions adverses pendant des périodes parfois très longues (plusieurs années). GOODEY (1930) dans une étude concernant la nature des "réserves" d'autres groupes de Nématodes conclut qu'elles sont constituées par des granules de graisses accumulées dans les parois de l'intestin. GOODFREY, OLIVEIRA et GITTEL (1933) rapportent un fait similaire chez les larves de Meloidogyne sp. et nous pouvons penser

.../...

qu'il en est de même pour les Heterodera. D'autant plus que lors de l'étude sur l'embryogenèse d'H. avenae, nous avons constaté dans l'intestin de la larve nouvellement formée, la présence de certaines granulations qui avaient un aspect graisseux.

La diapause d'H. avenae reste encore assez mal connue, car les recherches ont surtout porté sur la rupture de la dormance et non sur les causes de celle-ci. Par contre, la libération des larves à partir des kystes des Heterodera est un phénomène qui a été observé depuis très longtemps.

C'est CHATIN (1887) qui constate pour la première fois une émergence de larves infectieuses à partir de kystes d'H. schachtii placés dans du sol humide. Il pense alors que les kystes se gonflent et s'entrouvent, sous l'effet conjugué de l'humidité et de la chaleur, libérant ainsi les larves. Nous savons maintenant que la sortie des larves d'un kyste est un phénomène complexe et, malgré les nombreuses études qui lui ont été consacrées, certains détails restent à approfondir. De nombreux facteurs écologiques et biologiques interviennent dans le déclenchement du phénomène.

En ce qui concerne l'émergence proprement dite, FENWICK (1950a) considère que l'éclosion et la sortie de la larve hors du kyste sont le résultat d'un ensemble de processus que l'on peut diviser en trois séquences distinctes, à savoir : la pénétration de différents éléments à travers la paroi du kyste et la membrane des oeufs, la réactivation de la larve suivie de l'éclosion et finalement le mouvement de l'individu dans le kyste jusqu'à sa sortie par un orifice quelconque. Bien que l'auteur décrive le phénomène en étudiant l'effet des diffusions radiculaires de la plante-hôte sur H. rostochiensis, ces considérations peuvent être généralisées à l'ensemble des espèces d'Heterodera. Selon lui, la première étape n'est que la conséquence d'un phénomène physique de diffusion qui, une fois réalisée, affecte peu l'éclosion. La seconde phase est biologique et, par là même, soumise aux facteurs propres inhérents à l'espèce. Enfin, la sortie de la larve dans le milieu extérieur semble conditionnée par le nombre d'oeufs et par les larves déjà écloses et encore retenues par le kyste.

Cette dernière observation de FENWICK a été reprise par HESLING (1959a) qui montre, toujours sur H. rostochiensis, que le pourcentage de l'éclosion est d'autant plus réduit que le nombre d'oeufs dans le kyste est plus élevé. Il explique ceci par une insuffisance de l'oxygénation à l'intérieur des kystes bien pleins, accompagnée d'une augmentation de l'acidité résultant de l'activité de larves nouvellement écloses. Cette explication rejoint l'hypothèse d'ELLENBY (1946a et c), selon laquelle l'éclosion des

larves dans un kyste est arrêtée par un "facteur d'inhibition" produit par les larves elles-mêmes avant leur émergence. Plus tard, WALLACE (1955b et 1959) rapporte des faits analogues chez H. schachtii. L'importance de l'oxygénation à l'intérieur du kyste d'H. rostochiensis est soulignée par ONIONS dès 1955. Cet auteur note que nonobstant la perméabilité remarquable de la paroi du kyste vis-à-vis de l'eau et de divers agents stimulants, l'éclosion est probablement surtout influencée par la tension de l'oxygène de celui-ci. Pour cette raison, l'éclosion des larves dans un kyste ne se réaliserait pas au hasard, les oeufs situés en bordure de la paroi éclosent les premiers. La position de l'oeuf par rapport aux ouvertures naturelles, c'est-à-dire, près de la vulve ou près du cou qui en général est cassé et donne un orifice, ne semble pas jouer un grand rôle. Ayant bouché les ouvertures, ONIONS (1957) constate que la répartition de l'éclosion reste identique.

D'après WALLACE (1955a), l'humidité dans le kyste participe aussi de façon très importante à l'éclosion. C'est du moins ce que fait ressortir un de ses travaux étudiant la perte d'humidité par des kystes d'H. schachtii.

Tout ceci ne concerne que le phénomène lui-même, mais n'explique pas son déclenchement proprement dit pour lequel d'autres facteurs doivent nécessairement intervenir. Ces facteurs sont de deux ordres : ils concernent, d'une part, l'environnement du kyste et sont, soit microclimatiques (température, humidité, aération, granulométrie, etc...), soit biotiques (présence d'un hôte et sécrétions radiculaires, ou peut-être microflore et microfaune...) et, d'autre part, ceux inhérents à l'espèce elle-même. Les facteurs externes ont fait l'objet de multiples recherches notamment dans les travaux relatifs à H. rostochiensis. Nous nous y attarderons avec davantage de détails en exposant les différents essais réalisés dans le but de provoquer l'émergence des larves infectieuses d'H. avenae.

Les facteurs intrinsèques à l'espèce, liés à l'éclosion, ont été soulignés par SHEPHERD (1962). Les oeufs embryonnés contenus dans chaque kyste sont rangés en 4 catégories : oeufs incapables d'éclore, oeufs non prêts à éclore, oeufs prêts à éclore dans l'eau et oeufs prêts à éclore sous l'action d'un stimulant. D'après cet auteur, la proportion des individus appartenant aux deux dernières catégories diffère considérablement selon les espèces.

Chez H. avenae, SCHMIDT (1930) avait déjà remarqué qu'une petite proportion des larves ne parvient jamais à éclore et meurt ; il explique ce déchet par un facteur léthal. D'après ce que nous avons pu observer chez H. avenae, dans certains cas, la proportion relative des diverses catégories d'oeufs embryonnés contenus dans le kyste dépend du moment où l'observation est réalisée. En effet, il existe chez cette espèce une période de latence

.../...

assez longue au cours de laquelle la quasi totalité des oeufs embryonnés est dans l'impossibilité d'acquérir l'activité normale même si les conditions externes sont propices. Ainsi, les expérimentations que nous avons entreprises avec la population du Lauragais se sont trouvées limitées aux périodes d'activité de l'espèce étudiée, car nous n'avons pas pu lever la diapause qui maintient l'animal dans une inactivité totale pendant six mois de l'année.

2 - Etude expérimentale de l'éclosion.

Dès le début de nos recherches en mai 1964, nous pouvions constater sur la population du Lauragais, que l'émergence des larves était déjà achevée et que seuls les adultes âgés étaient présents. Toutes les tentatives pour obtenir des larves au laboratoire à partir des kystes récoltés demeurèrent vaines mettant clairement en évidence une période d'inactivité larvaire aussi bien chez les kystes de l'année que chez ceux des années antérieures.

L'étude de la biologie de l'espèce (voir précédemment) nous a montré qu'il s'agit d'une diapause vraie au début du deuxième stade larvaire. Ce phénomène d'inactivité de l'oeuf embryonné de H. avenae est connu depuis longtemps mais dans le cas présent il est cependant nettement décalé et prend place de la fin du printemps au début de l'automne contrairement à ce qui est constaté chez les populations plus nordiques. Nous reviendrons sur ce point important dans le chapitre consacré à l'écologie de l'espèce.

Nous avons tenté de lever la diapause par plusieurs séries d'expériences au cours desquelles nous avons soumis des lots de kystes aux conditions variés suivantes :

- contact d'eaux de diverses qualités,
- substrats de porosité variable,
- action d'extraits végétaux,
- action d'acides organiques et inorganiques à faibles dilutions,
- chocs thermiques.

Ajoutons que lors de certains de ces essais, nous avons employé des oeufs préalablement extraits du kyste, car FENWICK et WIDDOWSON (1959) ont montré que cette opération pouvait accélérer légèrement l'éclosion chez H. rostochiensis. Enfin, nous n'avons jamais contrôlé l'éclairement qui, selon WINSLOW (1955a) ne paraît pas affecter l'éclosion ni l'émergence des larves d'H. avenae même lorsqu'il s'agit de la lumière solaire, contrairement à ce qu'indique FENWICK (1951) pour H. rostochiensis.

a - Influence de la qualité de l'eau sur l'éclosion.

Il est courant d'observer chez plusieurs espèces d'Heterodera une sortie de larves à partir de kystes simplement immergés dans l'eau. Cependant, nous avons noté que chez H. avenae, les larves n'abandonnent pas les kystes

.../...

pendant la période de dormance. Pour confirmer cela, des oeufs et des kystes d'Heterodera avenae ont été placés en été dans des eaux de qualités différente renouvelées quotidiennement. Les résultats sur 100 kystes sont donnés dans le tableau suivant :

Traitements	Matériel traité à l'eau oxygénée		Matériel non traité	
	Kystes	Oeufs	Kystes	Oeufs
eau normale	1	0	0	9
eau distillée	0	2	0	0
eau de pluie	0	7	2	0
eau permutée	0	1	0	0
eau stérilisée	4	0	0	0

Ces résultats traduisent surtout l'inactivité totale de l'espèce à cette période de l'année alors que pendant la période hivernale on a une grande activité comme en témoignent les "témoins dans l'eau" des essais détaillés plus loin. En outre, le traitement à l'eau oxygénée à 20 volumes pendant 5 heures n'a pas provoqué une stimulation de l'éclosion comme FENWICK (1956) a pu l'observer chez H. rostochiensis.

b - Influence de conditions spéciales inhérentes à la nature du substratum.

La texture du sol qui règle en grande partie le taux d'oxygénation et l'humidité par le microclimat et les actions biologiques qu'elle permet (microfaune et microflore), doit être retenue comme un facteur important dans l'éclosion des Heterodera. Ainsi, TRIFFITT (1930b) explique les attaques d'H. rostochiensis plus sévères en sols légers qu'en sols lourds par une différence dans l'aération du sol. Chez H. schachtii, WALLACE (1954 et 1956d) a démontré au laboratoire le rôle primordial de l'oxygénation sur l'éclosion de l'espèce et souligné le rôle de l'humidité. En 1955 (a et b), cet auteur montre aussi que l'optimum d'émergence des larves de cette même espèce est atteint lorsque la tension superficielle, dans les pores du milieu sableux, correspond à un succion de 20 cm d'eau. Il ajoute qu'un excès de la tension

.../...

superficielle n'arrête pas l'éclosion des jeunes larves dans le kyste, mais empêche la migration des larves à l'extérieur du kyste. Celles-ci, en effet, pour sortir se heurtent alors à la tension du film d'eau qui enveloppe le kyste. Ce fait a pour conséquence d'interrompre la suite des éclosions en raison notamment d'un manque d'oxygène dû aux consommations des larves écloses, mais n'ayant pas pu migrer. Toujours d'après WALLACE, la pression favorable pour l'émergence des larves est obtenue quand l'excès d'eau du sable ou de la terre franche est drainé. Il est ainsi apparu à cet auteur (1959) que le renouvellement du milieu favorise l'éclosion chez H. schachtii, ce qu'il explique par l'élimination de substances inhibitrices parmi lesquelles le gaz carbonique.

En ce qui concerne l'effet de l'humidité sur la sortie des larves d'H. avenae, WALLACE (1958b) indique qu'un niveau de succion de 5 à 10 cm semble favoriser l'éclosion des oeufs, alors qu'à plus de 10 cm il y aurait inhibition. Ce résultat a été utilisé par SHEPHERD (1962) pour expliquer le ralentissement des émergences de cette espèce à partir du mois de juin en Angleterre.

Ces travaux nous ont amené à mettre en place une expérience où des kystes et des oeufs sont soumis à différentes conditions d'oxygénation et d'humidité à l'aide de substrats de nature variée. L'essai a été réalisé en été pendant la période de repos de l'espèce pour mieux apprécier dans quelle mesure ces facteurs influencent l'éclosion.

Les substrats choisis sont placés sur papier filtre à la surface de petits tamis en matière plastique affleurés seulement à leur base par de l'eau, ce qui permet de reproduire à peu près les conditions favorables d'oxygénation et d'humidité, signalées par WALLACE. De même les milieux solides et liquides employés furent renouvelés périodiquement sauf lorsque l'expérience impliquait une action directe sur l'oeuf. Dans ce cas, il est impossible de changer le substrat et seule l'eau est renouvelée.

Traitements		Matériel traité à l'eau oxygénée		Matériel non traité.	
		Kystes	Oeufs	Kystes	Oeufs
Eau normale		3	6	1	1
Sur papier filtre		1	2	2	2
Sur milieu gélosé		0	0	1	1
sable	Traité avec H Cl.	0	1	6	4
	Stérilisé	0	3	0	0
Terre	Stérilisée	3	1	0	5
	Sans stérilisation	8	2	0	0

.../...

Comme le montrent les résultats portés sur le tableau ci-dessus, aucun accroissement de l'éclosion n'est intervenu pendant la période de repos de l'espèce. La terre non stérilisée donne quelques larves de plus, mais ces résultats ne sont pas exploitables statistiquement.

c - Influence des extraits d'origine végétale .

- Sécrétions radiculaires.

BAUNACKE (1922) remarque le premier que les diffusats radiculaires de la betterave favorisent l'éclosion des oeufs de H. schachtii. Il en déduit que ces diffusats doivent renfermer une substance induisant une réaction chimiotactique de la larve déjà formée et accélérant l'évolution des "oeufs" non encore murs. De plus, il signale que les diffusats radiculaires sont aussi actifs en l'absence du végétal qui les produit.

WALLACE (1956b et 1958b) a repris cette question pour H. schachtii. Il indique qu'il s'agit d'un problème très complexe où interviennent à la fois la concentration des substances actives et l'espace intéressé par la diffusion de celles-ci (distance de la racine par rapport au kyste). Ceci est lié à l'humidité disponible dans le sol.

C'est cependant sur le Nématode doré de la pomme de terre que porte la plus grande partie des recherches réalisées sur ce sujet depuis les observations de BAUNACKE. Ainsi TRIFFITT (1930b) constate également qu'il existe une réaction des oeufs de H. rostochiensis sous l'effet de sécrétions radiculaires de la pomme de terre, même à de fortes dilutions. De plus, il indique que ces substances sont relativement abondantes car leur élaboration s'étend sur une zone assez grande et n'est pas confinée aux seuls méristèmes apicaux des racines.

En ce qui concerne la stabilité de ces substances, TRIFFITT a constaté que les sécrétions obtenues à partir de racines de pommes de terre demeurent plus longtemps actives si on les sépare de tout contact avec le végétal, ce qui est une observation très utile du point de vue pratique.

Plus tard, FENWICK (1949 - 1950 a et b - 1951b et c et 1952b) complète les observations de TRIFFITT en montrant que l'émergence est inversement proportionnelle au logarithme de la dilution des diffusats et qu'il existe un seuil de dilution au-delà duquel cette propriété disparaît.

FENWICK et WIDDOWSON (1959) ont testé directement l'effet de ces substances sur les oeufs de la même espèce et obtenu une réponse semblable à condition qu'elles soient extraites du kyste préalablement humidifié. Ce dernier point est souligné à nouveau par DUNN (1962).

Toutes ces études ont permis tout d'abord de concentrer, puis de purifier et enfin d'isoler des corps actifs ("hatching factor" des anglo-saxons) à partir des exudats radiculaires. Nous reviendrons plus tard sur

.../...

ce point, car actuellement les techniques de travail et les résultats obtenus sur H. rostochiensis sont appliqués à beaucoup d'autres espèces. Il est intéressant de signaler ici que l'effet stimulant des exudats radiculaires est imputé à une substance contenue dans ceux-ci, tel que BAUNACKE l'avait supposé. Or, DROPKIN, MARTIN et JOHNSON (1958) donnent une toute autre interprétation à ce phénomène. Selon eux, ces diffusats améliorent la perméabilité de la membrane de l'oeuf et facilitent le passage de l'eau et d'autres éléments, ions, molécules, etc... Pour ces auteurs, il s'agit là d'une action purement osmotique, c'est-à-dire physique et non biochimique.

Quant à H. avenae, SCHMIDT (1931), WINSLOW (1955a), HESLING (1957a) et WALLACE (1958b) n'ont pu mettre en évidence aucune stimulation de l'éclosion par l'action de diffusats provenant aussi bien de plantes-hôtes que d'autres plantes. Selon HESLING (1957a), l'absence d'action stimulante serait due au caractère éphémère des principaux végétaux actifs ou à leur faible rayon d'action. Enfin WALLACE, (1958b) trouve même un phénomène défavorable de ces diffusats ; on peut remarquer dans sa représentation que l'émergence chez H. avenae est plus élevée en l'absence de la plante-hôte, contrairement à ce qui se passe pour H. rostochiensis et H. schachtii.

Nos tests sur la population du Lauragais concernant ce point particulier ont été réalisés d'abord sur des kystes placés au voisinage de racines vivantes. Le tableau ci-dessous traduit les résultats obtenus avec diverses céréales utilisées.

	Céréales	Kystes traités à l'eau oxygénée.	Kystes non traités		Céréales	Kystes traités à l'eau oxygénée.	Kystes non traités
	Avoine "Blanche-neige"	0	2		Sorgho "N.K. 120"	0	6
	"Bidi 17"	2	6	M	"IA-4417"	5	3
B	"Dr Mazet"	2	0	A	"P-371"	2	5
	Etoile de Choisy	1	3	I	"P-377 A"	1	6
L	"INRA 888"	2	4	S	"Pionner 388"	1	3
	"INRA 923	0	0		"53-5"	3	2
E	"Languedoc"	0	0	O	"Ager"	0	5
	"Magali"	7	0	R	"Grignon"	0	3
	"Montferrier"	2	3	G	"G.V. 380"	3	0
	Témoin eau normale	1	4	E	"Ingrid"	1	4
					"Arès"	7	1

.../...

Comme on peut en juger, ces résultats sont insuffisants et n'apportent que peu d'informations nouvelles. Cependant, dans bien des cas nous avons pu remarquer que les poils absorbants emprisonnaient véritablement les kystes sans que ceux-ci aient montré une quelconque réaction, ce qui semble infirmer l'hypothèse d'une diffusion restreinte des sécrétions.

En nous appuyant sur les observations des auteurs déjà mentionnés, nous avons entrepris une expérience préliminaire pour essayer de trouver dans les eaux de lavages de racines de céréales un agent chimique pouvant exciter l'éclosion chez H. avenae. L'extraction des diffusats a été tentée à partir de plantules de graminées diverses, cultivées sur papier filtre en conditions aseptiques. Des dilutions variées des exudats ont été réalisées en lavant les racines de trois plantes avec 5, 10 ou 20 millimètres d'eau distillée, ces quantités ont été choisies arbitrairement. Aucun résultat positif n'a été obtenu avec ces solutions mais les traitements ont été, là encore, réalisés pendant la "diapause".

TRAITEMENTS				Matériel biologique utilisé (kystes)
Céréales	Concentrations 5 cc	10 cc	20 cc	
Avoine "Blanche-neige"	2	5	7	1) t.e.o.
	5	3	0	2) non tr.
B Bidi 17	1	3	3	t.e.o.
	0	3	4	non tr.
B Dr Mazet	6	2	3	t.e.o.
	0	5	4	non tr.
Etoile de Choisy	0	2	4	t.e.o.
	5	6	8	non tr.
L INRA 888	1	0	2	t.e.o.
	3	8	2	
INRA 923	1	0	1	t.e.o.
	0	3	2	non tr.
E Languedoc	0	5	4	t.e.o.
	6	6	0	non tr.
Magali	3	2	6	t.e.o.
	2	0	1	non tr.
Montferrier	2	1	3	t.e.o.
	5	2	2	non tr.
Témoin eau normale.		9		
		14		

TRAITEMENTS				Matériel biologique utilisé (kystes)
Céréales	Concentrations 5 cc	10 cc	20 cc	
Sorgho NK 120	7	0	2	t.e.o.
	3	6	6	non tr.
M IA 4417	1	3	4	t.e.o.
	6	0	3	non tr.
A P 371	2	4	6	t.e.o.
	3	2	3	non tr.
I P 377A	2	1	3	t.e.o.
	1	2	2	non tr.
S Pionner 388	0	2	0	t.e.o.
	3	2	3	non tr.
53-5	0	3	2	t.e.o.
	0	5	7	non tr.
O Ager	3	1	0	t.e.o.
	4	3	1	non tr.
R Arès	0	3	3	t.e.o.
	7	0	2	non tr.
G Grignon	3	2	5	t.e.o.
	2	7	0	non tr.
E G.V. 380	1	4	0	t.e.o
	3	0	2	non tr.
Ingrid	6	0	0	t.e.o.
	4	0	6	non tr.

(1) - t.e.o. = traité à l'eau oxygénée

(2) non tr. = non traité.

.../...

Malgré ces résultats peu encourageants, nous avons poursuivi des recherches sur les diffusats, mais en plaçant nos expériences dans la période d'activité larvaire de la population du Lauragais.

Pour améliorer la valeur des tests, nous avons utilisé comme matériel végétal 4 variétés de céréales aussi différentes entre elles que possible, à savoir : le blé "Bidi 17", l'avoine "Blanche neige", l'orge "Grignon" et le maïs "Pionner 388". Nous avons alors employé une technique inspirée de FENWICK (1949) et de HESLING (1957a) pour la culture des plantules, pour le lavage et l'obtention des sécrétions radiculaires ; la combinaison des deux procédés permet de simplifier les manipulations. Le rinçage des racines n'est entrepris que trois semaines après le début de leur germination, car d'après WINSLOW (1955a) en ce qui concerne la betterave et H. schachtii, les principes sont alors particulièrement actifs.

Les solutions ainsi obtenues sont conservées à 2°C lorsqu'elles ne sont pas utilisées immédiatement. L'expérience a été réalisée de novembre à mars sous une température constante de 13°C qui est, selon nos observations, la température optimale pour l'éclosion chez cette population. Le graphique ci-dessous traduit les résultats recueillis. Pour les établir nous nous sommes guidés sur les indications de FENWICK (1954c).

(voir illustrations en fin de mémoire, (Fig. 61).

Nous pouvons conclure d'après les éléments de cette expérience qu'il n'y a pas de stimulation et que bien au contraire la présence des diffusats paraît diminuer le nombre des éclosions. La quantité de larves qui se sont échappées des kystes a toujours été plus élevée lorsque nous avons employé simplement de l'eau pure. Les exudats d'avoine, blé et orge ont donné les pourcentages les plus faibles alors que le maïs a fourni des chiffres intermédiaires entre ceux-ci et les témoins.

Nos résultats confirment que le Nématode des céréales ne répond pas favorablement aux exudats radiculaires, comme cela avait été déjà montré. Pour ce qui a trait à l'action inhibitrice que nous avons remarquée, WINSLOW (1955a) et surtout HESLING (1957a) l'avaient déjà mise en évidence.

Chez les autres Heterodera, le seul cas connu, semble-t-il est celui rapporté par TRIFFITT (1930b) : l'éclosion d'H. rostochiensis est inhibé par l'extrait de moutarde, mais ce végétal n'est pas un hôte du Nématode doré.

- Broyats de parties aériennes -

Dans son étude sur les exudats radiculaires, TRIFFITT (1930b) rapporte que l'emploi de suspensions de sucs provenant de différents organes de pommes de terre ne provoque pas de stimulation vis-à-vis d'H. rostochiensis. JANZEN et VAN DER PUIN (1956) ont obtenu au contraire des résultats probants

.../...

pour le même végétal et le même parasite à l'exception toutefois des substances issues de tubercules. Ils ajoutent qu'ils n'ont fait que confirmer des résultats antérieurs de MASSEY (1951) et de MASSEY et NEAL (1951)[x]. Nous n'avons pas pu consulter ces travaux, mais d'après JANZEN et VAN DER TUIN, ils montrent que la stimulation provoquée par le principe provenant des parties aériennes ne se manifeste qu'après deux jours de trempage de celles-ci dans l'eau.

Pour l'espèce voisine H. schachtii, GOLDEN (1958) constate une augmentation assez notable de l'éclosion, avec des extraits de feuilles de betteraves sucrières obtenus par macération dans l'eau. Cependant l'efficacité de ces suspensions reste inférieure à celle des diffusats radiculaires du même végétal.

Nous avons réalisé des tests avec la population Lauragaise d'H. avenae en partant de broyats de racines d'une part, de parties aériennes d'autre part. La variété de blé dur Bidi 17 a été utilisée. Les broyats filtrés sont dilués dans des proportions variant de 5 à 50 % pour ne pas risquer de laisser échapper une stimulation possible. Les résultats plus ou moins anarchiques que nous avons rassemblés au cours de cette expérimentation ne nous permettent pas de nous prononcer sur l'efficacité d'un tel traitement. Toutefois, les broyats ne semblent pas favoriser l'éclosion de cette espèce, peut-être parce que les extraits végétaux utilisés sont très instables.

d - Influence de certains acides organiques et minéraux.

La recherche de substances stimulant l'éclosion suscite un grand intérêt en raison des applications pratiques qui peuvent en découler. De très nombreux travaux ont déjà été réalisés dans le but d'obtenir des substances se rapprochant des composés actifs trouvés dans les exudats. C'est sur H. rostochiensis que les données sont les plus abondantes ; ainsi CALAM, TODD et leurs collaborateurs (1949) purifient des extraits de pommes de terre et déduisent de certaines analyses qu'il s'agit vraisemblablement d'un acide qu'ils appellent acide "éclépique". Poursuivant ces travaux, ces chercheurs parviennent à isoler et à tester plusieurs produits faisant partie des exudats, (MARRIAN, RUSSELL, TODD et WARING (1949), RUSSELL, TODD et WARING (1949a et b), MARRIAN, RUSSELL et TODD (1949), CARROLL, HEYES, JOHNSON et TODD (1958), WIDDOWSON et WILTSHIRE (1958).

(x) - MASSEY, L.M. - 1951 - Studies on the Golden Nematode (H. rostochiensis) Hatching factor. Thes. Cornell University

MASSEY, L.M. & NEAL, A.L. - 1951 - Fed. Proc., 10 : 222.

.../...

pour le même végétal et le même parasite à l'exception toutefois des substances issues de tubercules. Ils ajoutent qu'ils n'ont fait que confirmer des résultats antérieurs de MASSEY (1951) et de MASSEY et NEAL (1951)[x]. Nous n'avons pas pu consulter ces travaux, mais d'après JANZEN et VAN DER TUIN, ils montrent que la stimulation provoquée par le principe provenant des parties aériennes ne se manifeste qu'après deux jours de trempage de celles-ci dans l'eau.

Pour l'espèce voisine H. schachtii, GOLDEN (1958) constate une augmentation assez notable de l'éclosion, avec des extraits de feuilles de betteraves sucrières obtenus par macération dans l'eau. Cependant l'efficacité de ces suspensions reste inférieure à celle des diffusats radiculaires du même végétal.

Nous avons réalisé des tests avec la population Lauragaise d'H. avenae en partant de broyats de racines d'une part, de parties aériennes d'autre part. La variété de blé dur Bidi 17 a été utilisée. Les broyats filtrés sont dilués dans des proportions variant de 5 à 50 % pour ne pas risquer de laisser échapper une stimulation possible. Les résultats plus ou moins anarchiques que nous avons rassemblés au cours de cette expérimentation ne nous permettent pas de nous prononcer sur l'efficacité d'un tel traitement. Toutefois, les broyats ne semblent pas favoriser l'éclosion de cette espèce, peut-être parce que les extraits végétaux utilisés sont très instables.

d - Influence de certains acides organiques et minéraux.

La recherche de substances stimulant l'éclosion suscite un grand intérêt en raison des applications pratiques qui peuvent en découler. De très nombreux travaux ont déjà été réalisés dans le but d'obtenir des substances se rapprochant des composés actifs trouvés dans les exudats. C'est sur H. rostochiensis que les données sont les plus abondantes ; ainsi CALAM, TODD et leurs collaborateurs (1949) purifient des extraits de pommes de terre et déduisent de certaines analyses qu'il s'agit vraisemblablement d'un acide qu'ils appellent acide "éclépique". Poursuivant ces travaux, ces chercheurs parviennent à isoler et à tester plusieurs produits faisant partie des exudats, (MARRIAN, RUSSELL, TODD et WARING (1949), RUSSELL, TODD et WARING (1949a et b), MARRIAN, RUSSELL et TODD (1949), CARROLL, HEYES, JOHNSON et TODD (1958), WIDDOWSON et WILTSHIRE (1958).

(x) - MASSEY, L.M. - 1951 - Studies on the Golden Nematode (H. rostochiensis) Hatching factor. Thes. Cornell University

MASSEY, L.M. & NEAL, A.L. - 1951 - Fed. Proc., 10 : 222.

TRAITEMENTS						Matériel biologique traité
	Acides.	0,025 %	0,05 %	0,075 %	0,10 %	
ORGANIQUES	Acétique	0	2	0	0	Kystes
		1	0	0	6	Oeufs
	Citrique	4	0	0	3	Kystes
		0	0	1	0	Oeufs
	Lactique	3	0	1	0	Kystes
		0	2	4	0	Oeufs
	Oxalique	2	0	3	0	Kystes
		5	1	0	6	Oeufs
	Picrique	0	2	1	0	Kystes
		3	2	0	0	Oeufs
	Propionique	1	0	2	4	Kystes
		4	0	0	2	Oeufs
	Tartrique	0	0	2	0	Kystes
		0	3	0	0	Oeufs
INORGANIQUES	Borique	5	0	1	0	Kystes
		2	6	3	0	Oeufs
	Chromique	2	3	0	5	Kystes
		1	0	4	0	Oeufs
	Chlorhydrique	2	3	0	5	Kystes
		1	0	4	0	Oeufs
	Nitrique	0	2	3	0	Kystes
		1	0	1	2	Oeufs
	Phosphorique	1	5	2	0	Kystes
		3	4	0	6	Oeufs
	Sulfurique	2	4	3	0	Kystes
		6	0	3	4	Oeufs
eau normale (témoin)			6			Kystes
			8			Oeufs

Aucun résultat positif ne ressort, mais il s'agit néanmoins d'une expérimentation relativement restreinte et faite en période de dormance.

e - Influence d'une stimulation thermique.

L'effet d'un choc thermique pour stimuler un phénomène biologique ainsi que l'existence de températures optimales pour que celui-ci se manifeste, sont connus depuis longtemps. Des travaux remarquables ont été

.../...

réalisés notamment dans le domaine de l'entomologie, où il a été établi qu'un abaissement de température entraîne souvent une réactivation. Cette température stimulante est en général plus basse que celle qui est normalement nécessaire au développement de l'animal et la réactivation constitue une remise en marche des processus physiologiques interrompus pendant une période plus ou moins longue.

De nombreuses études ont été réalisées à ce sujet sur les Heterodera, notamment sur H. rostochiensis et H. schachtii. Pour H. avenae, les travaux sont plus rares et nous nous référerons surtout à ceux de WINSLOW (1955a), HESLING (1956 et 1957a), COTTEN (1962a), FUSHTEY et JOHNSON (1966).

Dans une première expérience, nous avons soumis les kystes à des températures allant de -5°C à + 30°C dans l'espoir, une fois encore, de lever la diapause qui paralysait nos recherches sur le comportement biologique de l'espèce durant une grande partie de l'année. Les températures négatives maintenues de façon constante pendant plusieurs mois ou utilisées plus brièvement (30 minutes à 48 heures) pour provoquer un choc, n'ont produit aucun effet. Par contre, dans les lots conservés de 2° à 20°C, nous avons relevé des éclosions et la réaction dans cet intervalle de température a été précisé par la suite. Enfin, à plus de 25°C, le taux d'éclosion était infime.

Nous nous sommes alors limités à la gamme ayant donné les résultats les plus tangibles dans cette phase préliminaire.

Pour cette seconde expérimentation réalisée en pleine période d'activité, nous avons utilisé les températures suivantes : 2°, 7°, 13° et 20°C. Au début de l'expérience, nous avons placé 5 lots de 200 kystes à chacune de ces températures et à un moment donné, ces lots ont tous été subdivisés en 2 (à l'exception de ceux de 100 kystes qui étaient gardés à 20°C). Ainsi la première moitié de ces lots a été conservée jusqu'à la fin de l'expérience à la température initiale, la seconde moitié a été transférée à 20°C au bout de 6 semaines et y a été maintenue.

Nous avons pu évaluer de la sorte l'effet des différentes températures maintenues constantes et l'influence de leurs variations. Le graphique, ci-dessous permet d'étendre à H. avenae l'affirmation de DUNN (1962) selon laquelle la température de stockage du matériel avant son utilisation affecte considérablement l'émergence des larves chez H. rostochiensis. (cf. les illustrations en fin de mémoire, (Fig. 62).

Nous pouvons ainsi conclure que :

- dans la série à température constante le taux de sortie des larves le plus élevé est obtenu à 13°C et on peut supposer que l'optimum se situe près de cette valeur ;

.../...

- dans la série soumise à deux températures successives, une stimulation nette de l'éclosion est apparue dans les trois tests réalisés. C'est avec un départ à 2°C que nous avons eu les meilleurs résultats. Cependant, nous pensons qu'il s'agit plutôt d'une accélération du processus car le taux définitif des éclosions reste sensiblement identique à celui des autres séries.

Nous avons voulu confirmer et préciser les résultats obtenus dans la catégorie "2°C puis 20°C", avec une dernière expérimentation réalisée à la fin de la période d'activité. Celle-ci pouvant aussi nous permettre d'observer l'effet d'un choc thermique sur des kystes qui avaient fournis déjà une grande partie de leur contingent de larves pendant l'intervalle d'activité écoulée avant l'essai. Nous avons procédé de la même façon, avec 4 lots de 500 kystes respectivement ; les témoins étaient constamment maintenus à 20°C et un autre constamment à 2°C. D'autres lots furent exposés à 2°C pendant 4 semaines et ensuite à 20°C, 2°C pendant 10 semaines, puis aussi à 20°C. Le graphique ci-dessous exprime les données recueillies (df. les illustrations en fin de mémoire, (Fig. 63).

Les résultats de cette dernière expérience concordent avec la précédente, ce qui nous permet de conclure qu'H. avenae paraît avoir besoin d'une période de froid pour sortir de son inertie ou pour accélérer le déroulement d'un phénomène interne encore non précisé.

Il y a lieu de rappeler qu'HESLING (1956) a également constaté, chez la même espèce, que les kystes placés à 2°C pendant 20 jours puis à 25°C donnaient un taux de sorties plus élevé ; il indique aussi que cette augmentation de l'éclosion ne se maintient que durant 6 jours environ. Ces données sont proches de celles qui résultent des expériences que nous venons de décrire. Les quelques différences de détail que l'on peut relever proviennent probablement des conditions expérimentales.

En général, nos résultats obtenus avec les températures concordent avec les faits déjà connus, à l'exception peut-être de la température optimale en conditions constantes. En effet, WINSLOW (1955a) indique qu'il a trouvé une éclosion maximale à 20°C et HESLING (1956) rapporte qu'il a obtenu une sortie de larves très appréciable à 25°C. Par contre, FUSHTEY et JOHNSON (1966) situent l'optimum à 15°C ce qui est beaucoup plus proche de ce que nous avons trouvé.

D - DISCUSSION ET CONCLUSION.

La présente étude expérimentale concernant certains points de la biologie d'H. avenae permet de mettre en évidence quelques faits particuliers.

.../...

1 - Nombre de stades et durée totale du cycle dans les conditions de laboratoire.

Nos résultats montrent que l'on peut considérer qu'il y a 4 stades larvaires dans le développement de H. avenae. En effet, l'étude de ce qui se passe dans l'oeuf nous a conduit à observer la présence d'une 1ère mue avant même que la larve ne soit éclose. Par ailleurs, s'il nous a été impossible de mettre en évidence une 4ème exuvie chez la larve mâle, il n'en demeure pas moins qu'il paraît bien exister une période très particulière du développement de la larve du 3ème stade, au cours de laquelle des renversements anatomiques prennent place. Nous avons assimilé ceux-ci à des métamorphoses et suggéré que cela pourrait correspondre à un véritable changement de stade : la larve mâle passant ainsi du 3ème au 4ème stade. La métamorphose terminée, la larve anguilluliforme perce l'ancienne coque appartenant à la larve du 3ème stade et donne directement l'adulte.

En ce qui concerne la durée du cycle biologique, elle a été évaluée par plusieurs auteurs à quelques mois. L'étude que nous avons faite de ce point précis de la biologie d'H. avenae montre que :

- la durée du développement de l'oeuf et de la larve jusqu'à l'entrée en diapause est d'environ 18 jours à 20°C.

- bien que nous n'ayons pas pu évaluer avec exactitude la durée de la diapause, celle-ci est certainement de plusieurs mois.

- le développement post-diapause qui conduit le Nématode de la larve infectieuse de 2ème stade à l'état adulte demande généralement 20 jours pour le mâle et 30 jours pour la femelle.

- La formation du 1er oeuf demande environ une semaine après l'accouplement qui a lieu dès que les femelles sont devenues adultes. Cela signifie que les deux périodes d'activité durent une quarantaine de jours ou près de deux mois selon le sexe. Il est bien évident que quelle que soit la durée de la diapause, le développement total d'oeuf à oeuf demandera plus de deux mois. Nous verrons dans l'étude écologique qui suit, qu'il n'y a qu'une seule génération annuelle d'Heterodera avenae dans la région du Lauragais et que l'état de diapause dure au moins six mois. Les différences que l'on observe aussi entre les données des auteurs et les nôtres résultent probablement de ce que les premières portent sur une partie seulement du cycle et non sur sa totalité.

2 - La fécondation des femelles.

La production des oeufs n'intervient qu'après l'accouplement. Les ovaires deviennent alors très actifs et les oocytes formés sont fécondés par les spermatozoïdes stockés dans la spermathèque. Les oeufs évoluent dans

.../...

l'utérus et y achèveront leur développement embryonnaire.

Ceci nous confirme que le mâle est indispensable pour la reproduction de l'espèce et que le phénomène de parthénogenèse ne se présente pas, au moins de façon courante, chez cette population du Nématode des céréales.

3 - La période de dormance.

Bien que le genre Heterodera soit parmi les Nématodes phytophages, l'un des mieux connus grâce aux très nombreux travaux qui lui ont été consacré, on doit reconnaître que les connaissances sont encore très fragmentaires et qu'elles ne concernent que quelques espèces. La biologie de H. avenae peut se résumer en deux phases principales, la première comprend l'oeuf et la vie de la larve à l'abri dans le "kyste", la deuxième qui débute avec l'éclosion de la larve infectieuse du second stade rassemble les étapes les plus frappantes du développement de l'animal. Si cette dernière phase est fort bien connue maintenant, en partie grâce aux nombreux travaux qui ont été consacrés au genre et qui nous ont guidés, la première par contre, c'est-à-dire l'oeuf et la jeune larve en diapause, reste encore assez obscure. En effet, le kyste même représente à lui seul une population complète qui à l'expérience s'est révélée très hétérogène par son comportement.

Nous pouvons conclure d'après nos expériences qu'H. avenae est une espèce apparemment indépendante de la présence de l'hôte pour l'éclosion des larves.

On peut souligner aussi que ce Nématode paraît bien avoir besoin d'une exposition prolongée au froid pour reprendre son activité et que celle-ci se manifeste davantage à des températures plus basses que pour les autres espèces d'Heterodera connues.

A la lumière de ces considérations nous pensons que les recherches concernant la diapause, la stimulatinn de l'éclosion, le déterminisme du sexe et la fécondité chez cette espèce, bien que peu spectaculaires, n'en sont pas moins extrêmement utiles puisque ces multiples aspects fondamentaux ne sont encore que partiellement connus.

.../...

CHAPITRE IV - ECOLOGIE DE L'ESPECE.

A - GÉNERALITES.

Les Heterodera, comme tous les Nématodes phytophages, se déplacent peu et n'ont pas de migrations de grande envergure. Leur propagation à partir d'un foyer est assurée de diverses manières et est facilitée par l'existence du kyste. Ce dernier par ses qualités protectrices multiplie les chances de survie de son contenu pendant le transport. Ceci constitue l'une des raisons de l'importance économique des Heterodera par rapport à d'autres groupes de Nématodes phytophages moins favorisés dans leurs possibilités de dissémination. Il faut rappeler que le kyste ne représente pas un spécimen unique, mais qu'il constitue déjà à lui seul une population en puissance. Sa forme, sa taille, son poids, facilitent sa dissémination par le vent ou l'eau. Il peut tout aussi bien être apporté par des outils, des véhivules ou même par les animaux. L'homme est souvent à l'origine des dispersions les plus spectaculaires de ces parasites qu'il amène dans de nouvelles parcelles avec les plants ou les semences ; ainsi, H. rostochiensis est transporté avec les tubercules de pommes de terre. Pour illustrer ce mode de propagation chez H. avenae, nous allons donner un exemple très précis : lors de la visite d'une ferme située au coeur des foyers infectieux du Lauragais, nous avons été amenés à examiner de près un programme d'exploitation consistant en la production de plantules de variétés sélectionnées de carottes. Ces plants ont été ensuite distribués à divers agriculteurs de la contrée et mis en place dans plusieurs champs ; or, dans la terre des pépinières nous avons relevé un nombre élevé de kystes.

On pourrait penser que la sensibilité d'H. avenae à la dessication constitue un obstacle à sa propagation, mais selon DUGGAN (1960) si la déshydratation intervient alors que le kyste est mélangé à la terre, de nombreux oeufs demeurent viables. Ceci peut expliquer qu'H. avenae existe à l'état endémique dans la plupart des régions à vocation céréalière. Toutefois, il semble que l'extension des populations n'a lieu que lorsque la plante-hôte est présente. Ce point de vue est d'ailleurs souligné par SHEPHERD (1965). Le départ d'une population nouvelle s'effectue donc à partir du kyste et de ses oeufs, son maintien et son évolution sont déterminés par un certain nombre de conditions qui vont être abordées ensuite.

1 - Les facteurs externes.

Nous avons déjà montré l'influence de ceux-ci sur l'éclosion de l'espèce, ce qui implique déjà une dépendance étroite de l'animal vis-à-vis du climat et détermine ainsi ultérieurement une action directe sur la dynamique des populations.

.../...

Parmi les facteurs externes, la présence de l'hôte est primordiale pour l'extension d'une population. De plus, dans ce cas précis où l'éclosion semble indépendante de la présence des céréales, l'hôte doit être présent au moment précis de l'activité, ce qui confère une grande importance à la date de semis (DIETER, 1958 ; HESLING, 1959b). La nature même de la plante-hôte joue un rôle indéniable dans l'établissement et l'expansion de telle ou telle population, comme nous le verrons en parlant de races biologiques.

Les techniques culturales particulières à chaque région, conditionnées parfois par des impératifs climatiques et, certaines fois, par des problèmes économiques ou des habitudes , ont une forte répercussion favorable ou défavorable sur les fluctuations des populations de H. avenae (DUGGAN, 1958 ; HESLING, 1958b et 1959b ; COLLINGWOOD, 1962). En France, dans la région du Lauragais, la pratique de la monoculture a favorisé l'implantation de cette espèce et a entraîné des baisses catastrophiques de rendement qui déclassent progressivement la vocation céréalière initiale de cette province (RITTER, 1961).

A un double point de vue, la fertilisation joue un grand rôle dans l'accroissement des populations d'H. avenae. En premier lieu, il apparaît que toute augmentation de vigueur du végétal détermine une disproportion des sexes en faveur des femelles, ce qui se traduit par une élévation du taux d'infestation final. En second lieu, de nombreux travaux montrent qu'en stimulant la croissance des plantes, le système radiculaire de celles-ci héberge un plus grand nombre de parasites et permet ainsi à l'espèce de se développer davantage (FILIPJEV et SCHUURMANS-STEKHOVEN, 1941 ; FERRARI, 1960 ; FIDLER et BEVAN, 1963).

Les caractères liés au sol, tels que l'humidité, l'oxygénation, ont une très grande influence sur le développement du Nématode. Ceci d'une façon directe en affectant l'éclosion et la mobilité des larves et, d'une façon indirecte en agissant sur la plante-hôte. Il est donc nécessaire de considérer la texture du sol, ainsi que la matière organique, le pH, etc... A ce sujet, de nombreux travaux de recherches ont montré que c'est dans un sol léger qu'H. avenae trouve les meilleures conditions d'aération et d'humidité pour s'établir ; les résultats sont très controversés en ce qui concerne la matière organique et le pH (PUTNAM et CHAPMAN, 1935 ; FRANKLIN ; HESLING, 1958b ; RITTER, 1961 ; DAVIES, 1962 ; DUGGAN, 1963 ; ANDERSEN, 1964b ; DUTHOIT, 1964).

Finalement, tous ces facteurs qui viennent d'être énoncés agissent sur tous les microorganismes constituant la faune du sol, dont les ennemis naturels des Heterodera. Les connaissances actuelles relatives à cette question sont encore très superficielles, les seuls antagonistes que l'on connaisse sont représentés par des champignons, des Nématodes prédateurs

.../...

et des collemboles, (GOFFART, 1932a ; ROZSYPAL, 1934 ; LAAN, 1953 et 1956 ; HAMS et WILKIN, 1961). Parmi les champignons, nous avons observé quelques kystes, des spores d'Endogone spp., sans toutefois confirmer une action parasitaire puisqu'il s'agit d'un champignon du sol très ubiquiste.

Il est d'ailleurs curieux de constater que ces spores sont la réplique intégrale des kystes à une échelle très réduite ce qui les fait souvent dénommer microkystes.

On a pu voir également à plusieurs reprises des larves et des mâles d'H. avenae parasités par un champignon du genre Catenaria, mais il s'agit plutôt dans ce cas d'un champignon nécrophage attaquant des individus morts ou moribonds.

En ce qui concerne les Nématodes prédateurs, nous avons vu dans de nombreux cas des formes carnivores de la famille des Mononchidae avaler des larves infestantes d'Anguillule des céréales. Par ailleurs, on a parfois constaté l'existence de Dorylaimidae à l'intérieur des kystes, mais il semble que leur présence y soit purement fortuite sans être liée au parasitisme.

En ce qui concerne la population lauragaise d'H. avenae, nous n'avons pas entrepris d'expérience concernant l'évolution des populations en fonction des facteurs du milieu. Ceci est dû à ce que de telles recherches nécessitent beaucoup de temps pour donner des résultats valables. De plus, un travail concernant le problème vis-à-vis des assolements est effectué depuis dix ans au laboratoire de Nématologie d'Antibes ; RITTER en a d'ailleurs publié les premiers résultats en 1961. Il est toutefois nécessaire de signaler qu'au cours de nos recherches nous avons trouvé dans les champs considérés, des populations allant de 0 à 23.000 oeufs par kilogramme de terre. Les sols les plus infestés sont, en effet, les plus légers et la majeure partie d'entre eux renferme des infestations de l'ordre de 7.000 à 15.000 oeufs par kilogramme. Il nous est apparu possible d'étudier l'évolution d'une génération d'H. avenae, ainsi que les relations entre l'activité saisonnière et les facteurs climatiques (température et humidité). Nous discuterons plus loin des résultats obtenus.

B - REPARTITION DES DIFFERENTS STADES BIOLOGIQUES AU COURS DE L'ANNEE.

Parmi les différentes espèces d'Heterodera, H. avenae possède une biologie très particulière, marquée par l'alternance dans l'année d'une période d'activité et d'une période de repos. Nous avons déjà longuement insisté sur les modifications morphologiques et sur les variations de l'habitat du Nématode, pendant cette phase active.

.../...

Au cours de l'étude des différents stades, ces changements nous ont conduit à utiliser des techniques variées qui ont été décrites précédemment. Pour isoler les stades libres et filiformes (2ème stade et mâle) nous nous sommes servis de la méthode mise au point par DALMASSO (1966) et d'une méthode personnelle déjà détaillée dans les recherches sur la parthénogenèse. Pour l'extraction des kystes, c'est la technique classique de FENWICK qui fut utilisée. Enfin les stades endoparasites furent mis en évidence par coloration à la fuschine acide. Dans ce dernier cas, nous nous sommes heurtés à de nombreuses difficultés qui ne nous ont pas permis d'évaluer quantitativement les populations présentes. En effet, la dilacération manuelle des tissus radiculaires est imparfaite et ne garantit pas l'extraction complète des individus qui s'y trouvent. La dilacération mécanique, à priori beaucoup plus efficace, nous donne des suspensions où abondent les débris végétaux que l'on élimine habituellement sur des filtres très fins en utilisant les propriétés de mobilité des Nématodes. Or, dans le cas qui nous préoccupe, les individus extraits étant inertes, il est impossible de les séparer des débris végétaux et par conséquent de les observer. De toute façon, l'évaluation quantitative des populations endoparasites est illusoire pour plusieurs raisons :

- En premier lieu, il est pratiquement impossible lorsqu'on prélève une plante, même en opérant avec soin, de dégager la totalité du système radiculaire.

- En second lieu, la répartition des Nématodes dans les tissus varie considérablement d'une plante à l'autre et même d'un point à l'autre d'une racine. Ceci est dû à la dispersion hétérogène des kystes dans le sol, et à la multiplicité des facteurs (dont, en particulier, la date des semis) qui conditionnent l'envahissement des racines.

- Enfin, toute étude localisée étant régie par des conditions particulières, elle ne pourrait conduire qu'à des résultats limités ne pouvant s'appliquer à aucun autre cas.

Pour ces nombreuses raisons, nous n'avons pu réaliser qu'une étude qualitative basée sur des observations hebdomadaires. Les échantillons de blé dur examinés appartenaient à la variété "Bidi 17" et provenaient d'un terrain situé à Castelnaudary qui avait été ensemencé au début du mois de janvier.

L'analyse de l'ensemble de ce matériel nous a permis de mettre en évidence la succession chronologique des différents stades dans le cas particulier qui nous concernait mais sans extension de tous les résultats à d'autres champs.

.../...

- Kystes -

Les kystes sont toujours présents mais ne doivent être considérés que comme des réceptacles inertes dont l'importance dépend du nombre d'oeufs qu'ils contiennent. Seule la quantité totale d'oeufs doit être prise en considération dans le potentiel infestant d'une parcelle indépendamment du nombre des kystes dont le contenu varie largement en fonction de l'âge.

- Oeufs -

Comme nous l'avons vu antérieurement, la biologie d'H. avenae est assez particulière puisque la première mue a lieu dans l'oeuf et que l'éclosion n'apparaît qu'après une diapause du second stade. En conséquence, nous devrons considérer l'oeuf de cette espèce sous les trois aspects suivants :

a : oeuf vrai (zygote)

b : oeuf contenant la larve du 1er stade

c : oeuf contenant la larve du 2ème stade.

La durée de l'oeuf vrai est très éphémère car l'embryogenèse suit immédiatement la fécondation. Cette phase, qui ne se déroule que dans les femelles vivantes, a été observée dans notre cas du début mars à la mi-juin.

Les dates extrêmes entre lesquelles s'étend la durée de l'oeuf contenant la larve du 1er stade sont en étroite corrélation avec les limites de la phase précitée et lui succèdent simultanément. L'évolution du zygote jusqu'à la première larve demande environ 20 jours dans la nature. Ceci explique que nous ayons observé cette seconde étape entre la fin du mois de mars et la fin du mois de juin.

Rappelons que la première mue a lieu à l'intérieur de l'oeuf et se produit quelques heures après l'apparition de la première larve. Les larves du second stade nouvellement formées sont visibles dès la fin du mois de mars et peuvent ensuite rester en diapause plusieurs années à l'intérieur des oeufs contenus dans le kyste.

- Larves libres du 2ème stade -

Après être restées plus ou moins longtemps en dormance à l'intérieur des kystes, les larves du second stade, stimulées par des facteurs peu connus et en l'absence même de l'hôte, éclosent et émergent. Elles se dirigent alors dans le sol et pénètrent dans les radicelles lorsqu'elles rencontrent des céréales. Cette phase libre qui est le reflet de l'activité d'H. avenae dans la nature, se situe dans le Lauragais du début novembre à la fin avril. En conséquence, en ce qui concerne le champ que nous avons étudié, elles ont pénétré, dans les tissus radiculaires dès que les semis ont germé, c'est-à-dire vers la mi-janvier et l'invasion s'est poursuivie jusqu'à la fin avril, au fur et à mesure des éclosions.poursuivie jusqu'à la fin avril au fur et à mesure des éclosions.

.../...

Les larves libres du second stade sont les seules que les techniques d'analyse ont permis d'évaluer quantitativement. En outre, leur apparition étant indépendante de l'hôte, elles constituent l'unique étape dont l'étude puisse donner des renseignements généralisables à la région. Cette question sera d'ailleurs abordée en détail ultérieurement.

- Larves des 3ème et 4ème stades -

Dès que la larve libre du second stade a pénétré dans les tissus radiculaires, elle mue et donne naissance à un individu du 3ème stade dont le comportement et la cadence de développement varient ultérieurement selon qu'il s'agit d'une larve femelle ou d'une larve mâle. Ceci nous conduit donc à envisager séparément la répartition des stades suivant le sexe :

. Larves des 3ème et 4ème stades mâles.

Nos examens étant hebdomadaires et le passage du 3ème et 4ème stade mâle s'effectuant apparemment en 5 ou 6 jours, il ne nous a pas été possible de dissocier les dates d'apparition de ces deux phases du développement que nous avons toujours observées ensemble. On les a rencontrées du commencement de février jusquà la fin mai.

. Larves des 3ème et 4ème stades femelles.

Le même problème nous a empêché là encore de séparer chronologiquement les deux stades qui se sont étalés de la mi-février à la mi-mai. On constate dans ce cas un léger retard dans l'apparition du 3ème stade femelle par rapport au même stade mâle. A priori, ce retard semble imputable à ce que les premières larves infestantes ont des caractères sexuels mâles. En fait, nous devons préciser que les possibilités de distinction entre larves mâles et femelles ne peuvent se faire qu'à une phase avancée du 3ème stade et le décalage observé proviendrait plutôt d'une cadence de développement plus lente chez la future femelle qui mettrait davantage de temps pour atteindre la phase différentielle.

- Individus adultes.-

Nous avons déjà vu que la biologie des individus mâles et femelles est très différente puisque les premièrs reprennent une phase libre et gagnent le sol alors que les seconds demeurent piqués dans le système radiculaire. En conséquence, nous étudierons séparément la répartition de chacun des deux sexes dans un même champ.

. Les mâles.

Ils sont apparus dès la 2ème quinzaine de février et leur sortie s'est prolongée jusqu'à la mi-juin.

. Les femelles.

Les premières jeunes femelles ont commencé à se dégager des tissus dans la deuxième quinzaine de mars et les dernières ont été récupérées à la

.../...

fin du mois de juin. Bien que l'on ait déjà observé quelques kystes colorés dès la fin mai, on a remarqué qu'à partir de la mi-juin le brunissement se généralisait assez brusquement à l'ensemble de tous les kystes qui devenaient alors des **réservoirs** remplis d'oeufs, capables de se conserver plusieurs années dans le sol et d'assurer ainsi la pérennité de l'espèce. Nous devons signaler qu'au cours de prélèvements effectués en automne, bien après la moisson, dans des champs du Lauragais, on a rencontré quelques jeunes femelles sur les racines de certaines repousses de blé et d'avoine. Ceci est en contradiction avec la succession des stades que nous venons de décrire, mais ces femelles proviennent sans doute de larves infestantes du 2ème stade écloses au cours de l'été en dehors de la période normale d'émergence de l'espèce. COPPOCK et WINFIELD (1959) ont d'ailleurs fait des observations identiques en Angleterre sur des terrains en friche, mais à une période hivernale correspondant aussi à la phase normale de dormance pour les biotypes septentrionaux.

En résumé, nous pouvons dire que la durée exacte du cycle biologique d'un individu dans la nature ne peut être fixée avec précision. En effet, de nombreux facteurs liés au climat, aux méthodes culturales et à la plante-hôte elle-même, conditionnent sa vitesse de développement. Il en résulte qu'un animal infestant tardivement une radicelle peut devenir adulte en même temps qu'un autre qui a pénétré beaucoup plus tôt. Le seul délai qui puisse être donné sans erreur importante est celui qui s'écoule entre deux générations successives de larves infestantes, il est d'au moins une année dans le Lauragais.

C - FACTEURS DETERMINANT L'ACTIVITE SAISONNIERE DES POPULATIONS D'H. avenae.

L'effet de la température, de l'oxygénation et de l'humidité sur l'éclosion d'H. avenae, a été étudiée au laboratoire par de nombreux auteurs. Nous l'avons nous-même longuement discuté dans le chapitre traitant de la biologie. Par contre, peu de recherches ont été réalisées en ce qui concerne le rôle de ces facteurs dans la nature, ce qui serait pourtant très utile pour envisager les possibilités de lutte contre le parasite. En effet, la femelle enkystée qui assure la pérennité de l'espèce par les oeufs qu'elle contient, se trouve placée au sein même du sol, dans un microclimat particulier qui conditionne directement l'évolution de la population intrinsèque qu'elle représente, en régissant l'émergence des larves. Ces larves nouvellement écloses qui errent dans le sol représentent le seul stade infestant vulnérable et c'est pourquoi la connaissance des conditions d'émergence constitue un point essentiel dans la lutte contre ce Nématode.

.../...

1 - Etude du rôle de la température dans des coffres de plein air, à Antibes.

Nous avons déjà signalé qu'en plus de l'influence sur l'éclosion, la température joue un rôle très important sur l'activité d'H. avenae une fois la larve sortie de sa période de diapause.

LADYGUINA en 1962, pense que ce Nématode exige pour son développement moins de chaleur que l'espèce voisine H. schachtii, opinion que FILIPJEV et SCHUURMANS-STEKHOVEN (1941) avaient déjà formulée pour expliquer l'expansion particulière du parasite dans les pays septentrionaux. Dans le but de connaître l'influence de la température sur le comportement de notre population lauragaise inféodée à des régions plus méridionales, nous avons entrepris une étude en plein air du mois d'octobre au mois de juin dans des coffres de multiplication installés dans le jardin de la Station de Recherches sur les Nématodes d'Antibes.

Au cours de cet essai, nous avons noté, d'une part, la température du sol à l'aide d'un thermographe enregistreur à sonde placé à 20 cm de profondeur et, d'autre part, l'activité correspondante des Nématodes.

Le critère utilisé pour déterminer cette activité était basé sur l'importance du nombre de larves libres du second stade trouvées chaque semaine dans le sol par rapport au nombre de kystes présents. Ceci nous obligeait donc à effectuer une double analyse mettant en évidence les larves infestantes et les kystes. Afin de normaliser nos résultats nous les ajustions ensuite en exprimant la proportion de larves ramenée à 100 kystes.

Les graphiques ci-dessous résument les résultats obtenus lors de cette étude, (graphiques très schématisés - se reporter aux illustrations à la fin du texte). (Fig. 64).

Il semble qu'il existe une relation inverse entre les températures et l'activité des Nématodes. Toutefois, cette relation ne s'applique plus dans le cas des températures très basses qui paraissent gêner l'éclosion et l'émergence du parasite.

Il faut également noter que l'introduction de la plante-hôte dans les coffres cinq semaines après le début de l'expérience n'a nullement stimulé la sortie des jeunes larves dont l'émergence n'a paru affectée que par les conditions thermiques.

2 - Effets de la pluviométrie et de la température sur l'activité d'H. avenae en plein champ à Castelnaudary.

Le degré d'humidité d'une terre joue un rôle prépondérant dans la multiplicatinn d'H. avenae car il régit l'éclosion et l'émergence des larves infestantes ainsi que leurs déplacements dans le sol. Ainsi DUGGAN

.../...

(1961a) souligne l'effet inhibiteur d'une période de sècheresse et ajoute qu'en Irlande les dégâts sont plus importants lorsque les précipitations abondantes ont lieu aux mois d'avril et mai. En Angleterre DIXON (1963) compare l'influence de deux types de pluviométrie sur l'envahissement des racines d'avoine par le parasite et constate que le degré d'infestation est directement proportionnel à la quantité de pluie tombée.

Enfin, RACHEMACHER (1964) indique que l'importance des dommages provoqués par H. avenae est étroitement liée au degré d'humidité du sol et il explique ainsi les variations locales d'agressivité du parasite.

L'expérience précitée que nous avions réalisée dans des coffres s'était déroulée dans une terre maintenue régulièrement humide par des arrosages périodiques. Il nous avait donc été malheureusement impossible de noter l'influence de l'humidité du sol sur l'activité de l'Anguillule. En plein champ, à Castelnaudary, l'humidité et la température d'un sol donné dépendent uniquement des conditions météorologiques et c'est pourquoi nous avons pu noter dans ce cas leur influence sur le comportement de l'espèce. Pour cela nous avons suivi régulièrement, par des relevés hebdomadaires, la température du sol et la pluviométrie tandis que parallèlement l'analyse d'échantillons de terre, selon la méthode décrite précédemment, nous renseignait sur l'activité des Nématodes.

Des observations préliminaires faites au cours de l'hiver 1964-1965 nous avaient montré les limites approximatives de la période d'émergence en fonction de la température (Fig. 65). Ce n'est que pendant l'hiver 1965-1966 que des relevés plus réguliers portant sur l'ensemble des conditions météorologiques nous ont permis de préciser l'influence de celles-ci sur le comportement d'H. avenae. Les graphiques ci-dessous figurent les résultats obtenus (cf. illustrations à la fin du mémoire), (Fig. 66).

Nous constatons que l'activité du Nématode est assez proche ici de celle que nous avions observée à Antibes. Toutefois, la diminution des éclosions qui se situe vers le mois de janvier a été beaucoup plus marquée dans le Lauragais surtout au cours de l'hiver 1965-1966 où des températures très basses allant jusqu'à - 7°C ont été enregistrées. On remarque que cette chute hivernale est toujours suivie d'une augmentation rapide du nombre des éclosions jusqu'à un maximum de l'ordre de 250 qui semble d'ailleurs constant quel que soit l'abaissement qui le précède.

En outre, la variation des attaques d'une année à l'autre paraît étroitement liée aux fluctuations. Au cours de la saison 1964-1965, où les éclosions ont été assez régulières du fait de températures relativement douces, des dégâts spectaculaires furent enregistrés. Par contre, l'hiver

.../...

1965-1966 qui fut très rigoureux détermina une chute brutale des éclosions et entraîna des infestations moins importantes qui réduisirent apparemment les attaques du parasite. Des observations identiques ont été faites au Canada par CHAPMAN (1938) qui constate que les cultures de blé sont davantage endommagées après un hiver doux qu'après un hiver très froid.

En ce qui concerne l'influence de la pluie, une relation semble exister à priori entre l'importance des précipitations et le nombre des éclosions, mais nos données sont encore trop limitées pour conduire à des conclusions définitives. Cependant, comme on peut le voir, nos résultats préliminaires s'accordent assez bien avec les constatations de quelques auteurs étrangers déjà cités qui ont étudié le même problème.

D - CONCLUSIONS ET DISCUSSION.

Nous avons vu que la période d'activité de la population d'H. avenae inféodée à la région Lauragaise se situait de la fin du mois d'octobre à la fin avril. RITTER avait déjà signalé en 1961 que l'invasion des racines de céréales pouvait débuter dès le mois de novembre. Comme toutes les populations appartenant à cette espèce, la race lauragaise libère des larves infestantes pendant 5 à 6 mois et ne donne qu'une seule génération par an. Mais les larves du second stade n'émergent des kystes nouvellement formés qu'après une période de dormance estivale. Si l'on se réfère aux travaux de plusieurs auteurs étrangers, il semble que cette alternance d'une période d'activité hivernale et d'une période de repos estivale soit propre à la race lauragaise. En effet, SCHMIDT (1930 et 1931) et GOFFART (1932a, 1939 et 1949) constatent qu'en Allemagne l'espèce est active de la mi-mars à la mi-juillet. HESLING (1957a, 1957b et 1958) en Angleterre, DUGGAN (1961a et 1961b) en Irlande et ANDERSEN (1961) au Danemark arrivent à des conclusions identiques. Cette inversion du cycle biologique semble liée à des conditions climatiques différentes alors que les températures favorables à l'activité de l'espèce se rencontrent en période hivernale dans le midi de la France, elles n'apparaissent qu'au printemps dans les pays septentrionaux.

Le moment où intervient la période d'activité d'H. avenae par rapport à la période de végétation des plantes conditionne largement l'importance des attaques.

Dans le cas des céréales, par exemple, la phase active du Nématode coïncide avec l'époque la plus favorable à leur culture, ce qui entraîne obligatoirement des dégâts graves. Dans le cas particulier du Lauragais, on peut penser qu'en avançant la date des semis et en fertilisant judicieusement le milieu, on permettra au végétal de se développer suffisamment pour tolérer plus facilement toute infestation ultérieure. Nous avons d'ailleurs

.../...

pu vérifier ce point de vue en constatant que les plantes semées les plus tardivement sont toujours les plus atteintes. Toutefois, il faut rappeler que si les semis précoces et la fertilisation produisent des plantes supportant mieux les attaques du parasite, ils favorisent indirectement son expansion en offrant aux larves jeunes, une nourriture plus abondante.

Lorsque le cycle évolutif des plantes se trouve en dehors de la phase active du parasite, les cultures sont naturellement à l'abri de toute infestation. A Castelnaudary, c'est le cas du maïs et du sorgho que l'on substitue généralement au blé vers le mois d'avril lorsque la récolte se trouve compromise par des attaques trop importantes. On considère actuellement que ces deux cultures sont résistantes au parasite, mais nos observations montrent que cette propriété n'est pas immuable. En effet, nous avons vu au laboratoire qu'H. avenae semblait capable d'envahir ces deux plantes sans toutefois y achever son développement. Il n'est donc pas exclu qu'une sélection naturelle donne naissance dans le futur à un biotype particulier susceptible d'adapter son parasitisme à ces deux cultures.

L'évolution d'une population d'H. avenae dans la nature n'est donc pas seulement influencée par les facteurs externes, mais également par les caractères inhérents à l'espèce et qui constituent son potentiel biotique.

Tous les nématologistes admettent actuellement que parmi les espèces d'Heterodera les plus dangereuses pour l'agriculture, celle des céréales est la seule qui ne possède qu'une génération par an. Cette particularité l'empêche d'atteindre des populations aussi importantes que celles d'H. schachtii ou d'H. rostochiensis et devrait logiquement la rendre moins dangereuse. Toutefois, le seuil de nuisibilité pour les céréales étant inférieur à celui des betteraves et des pommes de terre du fait de leur caractère végétatif différent, les dommages provoqués par des populations restreintes d'H. avenae atteignent une ampleur identique aux autres cas.

En outre, alors qu'on assiste chez H. schachtii et surtout chez H. rostochiensis à une sortie soudaine des larves infestantes hors des kystes, on constate au contraire chez H. avenae que l'éclosion et l'émergence s'étalent toujours sur plusieurs mois (5 ou 6 mois dans le Lauragais).

Ainsi, chez les deux premières espèces, la nourriture offerte aux larves lors des éclosions massives s'avère insuffisante et un grand nombre d'entre elles périssent. Par contre chez le Nématode des céréales, la libération progressive des individus évite ce gaspillage et permet à l'espèce d'atteindre un taux d'infestation correspondant au seuil de nuisibilité pour l'hôte.

Il faut signaler également que la pérennité des Nématodes appartenant au genre Heterodera est assurée par la faculté que possèdent les

.../...

kystes de ne libérer chaque année qu'une partie de leur contenu. Cette fraction libérée peut varier entre les différentes espèces et même entre les kystes d'une même espèce. On conçoit donc que le pourcentage saisonnier d' éclosions influence, d'une part, le taux d'infestation initiale et partant la population finale et, d'autre part, la longévité du kyste.

En ce qui concerne H. avenae, GOFFART (1949) suppose que la viabilité du kyste peut se prolonger pendant sept ans. Pour RITTER (1961) cette période semble s'étendre sur 10 ans dans le Lauragais.

.../...

CHAPITRE V - ANALYSE DES RELATIONS PLANTES-NEMATODES

A - GENERALITES

1 - Exposé du problème.

H. avenae provoque dès sa pénétration dans les racines des céréales un déséquilibre physiologique, qui se traduit par un ralentissement de la croissance. Il s'agit ici, comme dans tous les cas de parasitisme vrai, d'un problème complexe car il y a interaction constante des deux organismes en présence. L'attaque entraîne à la fois des perturbations directes dans la physiologie de l'hôte et des réactions secondaires en favorisant le développement d'autres organismes pathogènes, normalement peu importants, qui la modifient à leur tour. Les conditions de milieu (facteurs climatiques, édaphiques, comportement variétal) influencent de même à la fois le Nématode et son hôte ; ce qui fait que la dynamique d'une population dans la nature est la résultante de multiples facteurs en constante interférence. Nous essaierons d'étudier successivement les quelques aspects suivants des relations hôte-parasite d'H. avenae : action des Nématodes sur ses hôtes, réaction de l'hôte, influence de l'état physiologique et de la nature de la céréale sur l'attaque par le parasite et enfin notion de race biologique chez celui-ci.

2 - Conditions déterminant l'intensité de l'attaque d'H. avenae.

Plusieurs facteurs déterminent l'intensité des attaques d'H. avenae. Parmi ceux-ci, on doit considérer le niveau d'infestation initial, les conditions climatiques et la nature même du végétal. Toutefois, l'un des plus importants est sans aucun doute l'époque de la contamination de l'hôte par le Nématode, car le stade du développement du végétal au moment de la pénétration des larves conditionne en grande partie l'importance des dégâts futurs. En règle générale, la plante se développe d'autant plus mal que l'invasion des racines a été plus précoce. HESLING (1959b) explique ce phénomène par une diminution du pouvoir attractif des racines âgées, qui acquièreraient ainsi une certaine immunité. En ce qui nous concerne, nous pensons que lorsque l'infestation est tardive, le végétal possède déjà un système radiculaire suffisamment développé pour lui permettre de survivre en dépit de la présence du parasite. Dans ce cas, le Nématode envahit d'ailleurs les radicelles avec une acuité identique à celle que l'on peut observer sur des jeunes plantules. On conçoit donc fort bien que l'importance des dégâts soit étroitement liée à l'âge de la plante au moment de l'attaque. En conséquence la date des semailles est un facteur prépondérant pour la réussite des cultures. Elle doit être précisée avec soin pour chaque région en fonction de la période d'activité du parasite. Ainsi, par exemple,

.../...

CHAPMAN (1938) montre qu'au Canada, dans l'Ontario, les blés semés tôt en automne sont toujours plus endommagés et GOFFART (1949) signale qu'en Allemagne les semis d'hiver sont défavorables au développement d'H. avenae.

3 - Symptômatologie de la maladie.

a - Les dégâts directs.

Ils sont déterminés d'abord par la pénétration de la larve infectieuse puis par la sécrétion de substances énigmatiques perturbant le développement des cellules et enfin par l'accroissement de taille du Nématode qui entraîne des déchirures du parenchyme cortical.

En ce qui concerne la lésion produite par la pénétration, elle est toujours très réduite. De plus, la zone pilifère au niveau de laquelle s'introduit la larve, est la partie de la racine où le métabolisme cellulaire est le plus intense. En conséquence et étant donné le faible diamètre de l'animal (25 µ environ), on assiste à une obturation et à une disparition très rapides de l'orifice de passage. Le nombre de cellules lésées ensuite par le déplacement de la larve infestante jusqu'à son point d'installation (parallèle au cylindre central) est très réduit car il semble qu'elle circule en empruntant les méats intercellulaires. Parvenu à sa place définitive, le Nématode commence à s'alimenter au détriment des cellules voisines de sa tête. Nous n'avons pas fait d'études histologiques concernant les réactions des cellules attaquées par H. avenae, mais il se peut qu'elles soient identiques à celles que plusieurs auteurs ont décrit pour d'autres espèces d'Heterodera.

Ainsi O'BRIEN et PRENTICE (1930) mentionnent l'existence d'un petit nombre de cellules géantes causées par H. rostochiensis. Etant donné leur faible quantité, elles n'aboutissent jamais à la formation de galles comme cela se produit chez le genre voisin Meloidogyne. FILIPJEV et SCHUURMANS-STEKHOVEN (1941), FRANKLIN (1951), WILLIAMS (1957), ainsi que COLE et HOWARD (1958), confirment l'observation précédente. PIEGAT et WILSKI (1965) étudiant cette question en détail, observent que ce gigantisme cellulaire est accompagné d'une augmentation de la densité des éléments cytoplasmiques, ainsi que d'une multiplication du nombre de vacuoles et de leur grandeur dans les cellules environnant le Nématode. Les auteurs remarquent aussi que les grains d'amidon et les leucoplastes sont plus réduits et les chondriosomes dégradés.

Chez H. lespedezae, YUAN-PING (1963) rapporte qu'il utilise les anomalies des tissus pour repérer les larves. Il s'agit probablement des gonflements que l'on peut observer au point d'installation du Nématode. Ainsi qu'il a été dit au chapitre des techniques, nous avons nous même souvent utilisé cette particularité pour déceler la présence d'H. avenae.

.../...

Ces gonflements qui apparaissent en début d'attaque, proviennent de la réaction du végétal à la présence du corps étranger que constitue l'animal. Selon FILIPJEV et SCHUURMANS-STEKHOVEN (1941), ils seraient dûs à un arrêt de la croissance des fibres latérales qui demeurent courtes et déformées.

L'animal fixé dans les racines poursuit son développement et augmente considérablement de volume. Cette augmentation provoque la déchirure des tissus radiculaires de l'hôte et ouvre ainsi de nombreux accès à une multitude d'agents pathogènes secondaires.

La lésion provoquée par le Nématode empêche une activité méristématique normale de la portion apicale de la racine. Cette activité se reporte alors dans la zone radiculaire située immédiatement au-dessus de la partie malade où elle induit la formation de nombreuses radicelles latérales. Celles-ci, attaquées à leur tour, se ramifient de la même façon et on aboutit ainsi à la formation d'un chevelu très ramifié donnant au système radiculaire un aspect "coralliforme" caractéristique des attaques d'H. avenae. On peut penser à priori que la multiplication du nombre des radicelles permet une meilleure nutrition du végétal. Mais il n'en est rien, car ce système radiculaire est très superficiel et n'explore que les couches supérieures du sol dont le degré hygrométrique généralement assez bas est défavorable à une bonne absorption des éléments nutritifs, (Fig. 68).

Les répercussions sur les parties aériennes des dommages causés aux racines sont très nombreuses. On assiste d'abord à un ralentissement de la croissance de la plante dont les extrémités des feuilles basales se dessèchent, tandis que le limbe devient rougeâtre (Fig. 67). Quand l'attaque s'accentue, le tallage n'a pas lieu et la plante meurt. L'ensemble de ces symptômes fait penser à une déficience généralisée en eau et en éléments nutritifs. Ceci est confirmé par les travaux de DUGGAN (1961a) qui observe que les plantes malades présentent souvent une carence en manganèse, même si cet élément est apporté expérimentalement. Les dégâts s'accentuent souvent de façon spectaculaire en période de sécheresse.

FILIPJEV et SCHUURMANS-STEKHOVEN (1941) signalent en plus, que l'aspect extérieur des plantes attaquées est souvent celui de végétaux atteints d'anoxie. Ils imputent cette réaction au mauvais fonctionnement des racines atrophiées. RITTER (1961) informe qu'un phénomène identique est observé en France depuis longtemps dans de nombreuses régions céréalières et qu'il est sans doute lié à la présence d'H. avenae.

b - Les dégâts indirects.

Selon FILIPJEV et SCHUURMANS-STEKHOVEN (1941), les dégâts provoqués par la pénétration d'H. avenae ouvrent la porte à d'autres agents pathogènes.

.../...

Cependant cette question reste encore imprécisé même chez des espèces mieux étudiées et il est difficile de préciser à l'heure actuelle la nature exacte des relations entre le Nématode des céréales et les autres organismes pathogènes toujours présents dans le sol.

Par ailleurs, les racines attaquées par le Nématode sont incapables d'explorer un grand volume de sol. Elles se trouvent donc concurrencées par une importante végétation adventice qui, n'étant pas gênée par le développement des céréales, supplante rapidement celles-ci et les étouffent. DUGGAN (1961a) ajoute que ce phénomène de compétition est surtout important lorsque la culture est accompagnée d'apports azotés qui favorisent surtout les mauvaises herbes et accentuent la concurrence au détriment des céréales.

En ce qui nous concerne, nous avons effectué une série d'expériences destinées à préciser la nature des relations hôte-parasite dans le cas particulier de la population lauragaise d'H. avenae.

B - LES RELATIONS PLANTE-PARASITE.

1 - Importance du niveau de la population sur les relations hôte-nématode.

a - Analyse des dégâts sur l'hôte d'après l'intensité de l'attaque.

L'influence du taux d'infestation sur le développement des céréales a été très bien étudiée par HESLING (1957b). Cet auteur a montré que la croissance des plantes était très fortement réduite lorsque l'attaque augmentait. Par ailleurs, il a indiqué que la hauteur de la plante constituait un critère suffisant pour évaluer l'importance des dégâts. En outre, FILIPJEV et SCHUURMANS-STEKHOVEN (1941) ont signalé que les grains ne se forment pas dans les plantes très touchées parce que les fleurs produites ne sont pas fécondées. Nous avons voulu nous-mêmes préciser le comportement du blé vis-à-vis de différentes intensités d'attaques d'H. avenae (souche lauragaise).

Pour cela nous avons réalisé en serre une expérience consistant à mettre des plantules de blé appartenant à la variété "Bidi 17" (très sensible) dans des pots ayant reçu des inoculum choisis. Les pots, d'une capacité de 2 kg., sont remplis d'un mélange de terre et sable en parties égales, puis le tout est stérilisé à l'autoclave à 120°C pendant une heure et demie. Cette opération terminée, l'inoculum est introduit sous forme de kystes pleins d'oeufs recueillis selon un procédé cité (chapitre I). Les infestations théoriques utilisées sont les suivantes :

- Série 1 : 20.000 oeufs embryonnés par kg de sol,
- Série 2 : 10.000 oeufs embryonnés par kg de sol,
- Série 3 : 5.000 oeufs embryonnés par kg de sol,
- Série 4 : 1.000 oeufs embryonnés par kg de sol,
- Série 5 : 0 oeuf embryonné par kg de sol,

Nous avons réalisé 5 répétitions pour chaque série, ce qui nous a permis d'étudier la distribution des résultats et d'analyser ceux-ci statistiquement selon les modalités d'un carré latin. Pendant l'expérience, une humidité favorable au bon développement des plants a toujours été maintenue et la température est demeurée comprise entre 15 et 20°C.

Après avoir été mises en germination dans des conditions aseptiques, les plantules ont été sélectionnées de façon à ne conserver que celles dont la taille atteignait huit centimètres. On a procédé ensuite au repiquage dans les pots en raison de 3 plantes par pot. Chaque semaine nous avons ensuite noté régulièrement l'état sanitaire des végétaux pendant toute la durée de leur cycle. Le graphique ci-dessous traduit l'influence de l'inoculum sur le développement en hauteur de l'hôte pendant la durée du cycle végétatif (cf. illustrations en fin de mémoire), (Fig. 71).

Ainsi que le montre le graphique il existe une relation directe entre la croissance du végétal et le taux d'infestation. Pour la série 4, où l'inoculum est faible (1.000 oeufs embryonnés par kg de sol), les plants atteignent une hauteur supérieure à celle du témoin. On peut expliquer ce phénomène par une stimulation de la rhyzogenèse consécutive à la pénétration des larves infestantes et par la faible importance des attaques ultérieures. CHITWOOD et FELDMESSER (1948), ainsi que LOWNSBERY et PETERS (1955) ont constaté respectivement un phénomène analogue sur H. rostochiensis et H. tabacum.

Nous avons observé en outre que la floraison et l'émission des épis ont été retardées dans les séries fortement infestées avec 10.000 et 20.000 oeufs.

Afin que l'analyse statistique de cette expérience porte sur un plus grand nombre de facteurs, nous y avons introduit les éléments complémentaires suivants relevés pour chaque plante à la fin du cycle végétatif :

- a : hauteur de la plante à partir du collet,
- b : nombre total de feuilles produites,
- c : nombre d'entre-noeuds,
- d : poids vert sans les racines,
- e : poids sec sans les racines,
- f : longueur de l'épi sans barbes,
- g : poids sec de l'épi avec les barbes,
- h : nombre de grains produits,
- i : poids sec des grains produits.

.../...

Au moyen de l'analyse de variance, nous avons essayé de trouver les relations existantes entre ces variables et le taux d'infestation. Les éléments principaux sont portés dans le tableau suivant :

	a	b	c	d	e	f	g	h	i
Moyennes (série 1	68,22	8,13	5,66	1,17	0,89	2,70	0,27	5,37	0,13
(série 2	84,39	9,73	6,20	2,00	1,48	3,48	0,60	10,66	0,36
(série 3	96,80	10,53	6,66	3,75	2,29	4,46	1,07	17,06	0,77
(série 4	99,40	15,40	7,13	5,48	3,11	5,09	1,33	18,80	0,82
(série 5	96,10	25,36	7,26	12,55	6,72	7,36	2,50	32,81	1,83
C.V. Résiduel	10,08	10,37	9,01	31,79	29,08	5,32	23,84	27,96	28,37
Var. Résiduelle	80,59	2,06	0,35	2,52	0,71	0,06	0,07	22,44	0,04
Var. entre Trait.	840,57	244,54	2,20	103,10	26,37	15,94	3,68	536,07	2,14
F.	10,43	118,65	6,23	40,90	37,07	264,16	48,55	23,88	43,28
P.P.D.S.	12,37	1,98	0,82	2,19	1,16	0,34	0,38	6,53	0,31

Les conclusions suivantes peuvent être formulées :

- Il existe une différence hautement significative entre les taux d'infestation et toutes les variables, il y a donc une relation directe entre l'importance de l'inoculum et celle des dégâts observés, (Fig. 72).

- Le test F montre que certaines variables sont davantage affectées par l'infestation et en particulier la longueur de l'épi sans les barbes (f), ainsi que le nombre total de feuilles produites (b). Ces deux variables constituent le moyen le plus efficace pour apprécier les dégâts causés par H. avenae sur blé dans les conditions de l'expérience. D'ailleurs les différences entre les longueurs des épis étaient très marquées et facilement appréciables au premier coup d'oeil, (Fig. 73).

- L'étalement des moyennes n'est pas le même pour toutes les variables. Ainsi les valeurs moyennes de b, d, e, g, h, i, provenant des séries "infestées" se rassemblent tandis que celles du témoin s'écartent notablement. Pour les autres variables a, c, f, (et principalement a et c), il n'existe pas d'écart marqué entre les moyennes des séries "infestées" et celles du témoin. On doit souligner que ces trois dernières variables expriment toutes des longueurs.

- La variable "a" (longueur totale de la plante) n'est pas affectée tant que l'infestation reste faible. Ceci confirme d'ailleurs ce que nous venons d'indiquer au sujet d'une apparente stimulation de la croissance en hauteur sous l'effet d'une basse infestation. Il faut toutefois signaler que dans tous les cas, les plantes utilisées dans notre expérimentation ont

.../...

atteint des hauteurs relativement élevées par rapport à leur taux d'infestation. Dans la nature, les céréales auraient certainement réagi de façon très spectaculaire. Ce comportement assez particulier est sans doute imputable aux conditions artificielles que les végétaux ont rencontrées dans la serre expérimentale.

Quoi qu'il en soit, nous pouvons affirmer, en ce qui concerne le blé, qu'une population même réduite peut se révéler redoutable en raison du potentiel biotique très élevé de l'espèce.

b - Evolution du taux d'infestation d'H. avenae en fonction de la vigueur de l'hôte.

Des travaux antérieurs réalisés par plusieurs auteurs ont montré les relations existant entre la population initiale présente dans un champ avant une culture céréalière et le niveau d'infestation final après la récolte. JONES et MORIARTY (1956), ainsi que HESLING (1957b) notent que plus le niveau initial d'infestation est élevé, moins la population finale est importante. Ils suggèrent que ce phénomène provient d'une concurrence nutritionnelle intense entre les larves infestantes. Lorsque celles-ci sont en grand nombre, la nourriture disponible est insuffisante et une grande partie d'entre elles périssent. Au contraire, lorsqu'elles sont peu nombreuses elles trouvent largement de quoi subsister et se développent dans de bonnes conditions. DUGGAN (1958) a très bien complété ces travaux, en faisant varier non seulement l'inoculum, mais aussi les variétés. Il en ressort que certaines variétés d'avoine multiplient 16 fois la population initiale avec un inoculum de 8 oeufs, 3 fois avec un inoculum de 32 oeufs et la fait décroître avec un inoculum de 70 oeufs par g. Dans le même travail DUGGAN constate que, pour une souche attaquant les deux végétaux, le blé ne favorise pas la multiplication de la population dans les mêmes proportions que l'avoine.

En utilisant la même expérience que précédemment, nous avons pu également étudier l'influence du comportement de l'hôte infesté sur la dynamique des populations du parasite et, partant sur le taux d'infestation final.

Les racines des végétaux que nous avions déjà utilisées, ont été laissées sur place dans le sol et sont désséchées progressivement pendant deux mois. Les kystes ont pu ainsi se détacher des racines et se sont trouvés dans le milieu. Après un brassage énergique de la terre destiné à répartir les kystes de façon homogène, nous avons procédé à l'extraction sur 250 g. en utilisant la méthode classique.

Le taux de multiplication de l'espèce a été calculé d'après la formule suivante citée par HESLING (1957b) pour évaluer les fluctuations

du nombre d'oeufs :

$$x = \frac{\text{oeufs totaux à la fin de l'expérience}}{\text{nombre initial des oeufs}}$$

Les résultats de notre expérience sont portés dans le tableau ci-après :

Taux de multiplication d'H. avenae selon le niveau d'infestation

Séries	Nombre initial d'oeufs	Nombre final d'oeufs	Taux de multiplication
1	20.000	17,516	0,80
2	10.000	16.416	1,64
3	5.000	23.400	4,70
4	1.000	5.353	5,35
5	0	0	0

L'infestation la plus favorable dans le cadre de cette expérience se situe entre 1.000 et 5.000 oeufs par kg. Avec de tels inoculum, les dégâts ont été légers et ont permis à la plante de poursuivre sa croissance. Ainsi une grande partie des larves infectieuses a pu se développer normalement et produire des kystes. Pour les infestations plus fortes de l'ordre de 10.000 à 20.000 oeufs, les dommages sur le végétal ont été très accusés. La multiplication du parasite privé de nourriture a été plus faible et, dans le dernier cas, la compétition intraspécifique qui s'est établie a abouti à une régression de la population initiale.

Il est bien évident que les résultats qui sont obtenus par de telles expériences ne peuvent être généralisées, mais ils nous permettent cependant d'avoir une certaine idée de ce qui peut se présenter dans les conditions naturelles. Il semble que ces phénomènes sont normalement plus atténués, car ainsi que le rappelle HESLING (1957b), l'espèce se multiplie mieux en pots. Il est possible d'expliquer ceci par la concentration artificielle des larves infestantes dans la rhizosphère, alors qu'en pleine terre un grand nombre d'entre elles s'égarent dans le sol. En conclusion, on peut dire que la population finale est toujours inversement proportionnelle au taux initial d'infestation.

2 - Influence de l'hôte sur les relations hôte-parasite.

a - Analyse des différences de comportement variétal du blé vis-à-vis d'H. avenae.

On s'est efforcé depuis longtemps d'enrayer les attaques de divers parasites en recherchant des variétés végétales susceptibles de leur résister.

.../...

Les modalités variées de cette résistance ont entraîné la création d'une terminologie propre à chaque discipline (Entomologie, Virologie, Pathologie, etc...).

En ce qui concerne la Nématologie, GOFFART (1932b) distingue deux sortes de plantes résistantes : les "neutres" que les larves peuvent envahir sans avoir la possibilité de s'y développer ensuite et les "hostiles" dont les exudats radiculaires stimulent l'éclosion, mais où les larves infestantes sont incapables de pénétrer.

Le premier travail ayant trait à la recherche de variétés résistantes à H. avenae est dû à NILSSON EHLE (1920) qui, après avoir testé plusieurs types d'avoine, signale qu'ils sont tous susceptibles d'héberger le parasite.

Dès lors de nombreux auteurs, tels que : GOFFART (1932a, 1941, 1949), MILLIKAN (1938b), FRANKLIN (1951), ANDERSEN (1954, 1958, 1959, 1961), JONES et MORIARTY (1956), DUGGAN (1958), DAVIES et GRIFFITHS (1962), GAIR, PRICE et FIDDAIN (1962), COTTEN (1963) et KORT (1964) ont montré que le comportement des populations d'H. avenae vis-à-vis de différentes variétés de céréales changeait considérablement d'un pays à l'autre et même d'une région à l'autre à l'intérieur d'un même pays.

En ce qui nous concerne, nous avons entrepris de tester le comportement d'un certain nombre de variétés de blé à l'égard de la race laurgaise. Le dispositif expérimental adopté consistait à contaminer artificiellement de la terre en y incorporant un certain nombre de kystes pleins représentant une infestation théorique de 10.000 oeufs par kg. Pour chaque variété de blé étudiée, nous utilisons 10 pots de 14 cm de diamètre remplis avec le mélange précité. Chaque pot reçoit 3 plants de la variété testée. Cinq pots destinés à l'observation directe de la formation des kystes sont sacrifiés deux mois après le début de l'expérience. Le système radiculaire des plantes qu'ils contiennent est soigneusement examiné pour y déceler la présence de kystes ou de larves. Les 5 pots restant servent à évaluer l'accroissement des populations du parasite et ne sont analysés qu'en fin d'expérimentation. Conjointement, des observations hebdomadaires des parties aériennes permettent d'apprécier le comportement des végétaux attaqués par comparaison avec des témoins sains. L'évaluation des hauteurs moyennes des plantes, à la fin du cycle végétatif, nous a permis de réaliser le graphique suivant (cf. illustrations en fin de mémoire), (Fig. 74).

Ainsi qu'on peut le constater, toutes les variétés de blé ont été très infestées et présentent une forte diminution de taille due à l'attaque du parasite.

.../...

b - Influence de la nature de l'hôte sur le Nématode.

Ainsi que nous l'avons déjà indiqué, l'expérience précédente devait également nous servir à établir les relations existantes entre le comportement variétal d'une céréale et sa répercussion sur le Nématode. Pour cela, à la fin du cycle végétatif du blé, on a évalué la population finale atteinte pour chaque variété afin de préciser s'il s'agissait d'un "bon" ou d'un "mauvais" hôte.

Le tableau ci-dessous indique le préférendum nutritionel de la population lauragaise.

Taux de multiplication d'H. avenae en présence de différentes variétés de blé.

Variétés	Nombre initial d'oeufs	Nombre final d'oeufs	taux de multiplication.
Bidi 17	10.000	22.130	2,21
Capitole	10.000	20.700	2,07
Dr Mazet	10.000	26.700	2,67
Etoile de Choisy	10.000	21.900	2,19
I.N.R.A 888	10.000	23.160	2,32
I.N.R.A. 923	10.000	21.830	2,18
Languedoc	10.000	18.230	1,82
L.D. 308	10.000	20.060	2,00
Magali	10.000	16.070	1,60
Moisson	10.000	20.700	2,07
Montferrier	10.000	22.660	2,27
Sentry	10.000	21.860	2,19

On constate des fluctuations assez nettes dans les taux de multiplication selon les variétés. Ainsi, "Dr Mazet" permet un accroissement important de la population initiale alors que "Magali" et "Languedoc" sont moins favorables. Toutefois, on peut considérer que dans les conditions de l'expérience, toutes les variétés éprouvées favorisent l'augmentation du nombre des Nématodes. Dans tous les cas, les kystes produits par les diverses variétés n'ont pas accusé de différences nettes dans leur teneur en oeufs.

Outre l'essai que nous venons de décrire, nous avons également réalisé des observations en coffre, afin de compléter les recherches sur le comportement d'H. avenae à l'égard de différentes variétés de blé.

.../...

Le dispositif expérimental adopté consistait à remplir un coffre avec un mélange égal de terre et de sable. Une des moitiés du coffre était infestée tandis que l'autre servait de témoin. La disposition de l'ensemble est d'ailleurs détaillée au chapitre I. L'inoculum utilisé était théoriquement de 10 oeufs embryonnés par gr. de sol. Comme précédemment, nous avons basé les résultats sur l'examen des parties aériennes. D'emblée nous avons pu remarquer d'après l'aspect général des plants, que l'activité du parasite se révélait inférieure à celle qu'il avait en serre. En effet, même les variétés les plus susceptibles sont parvenues à maturité en n'accusant que de légers symptômes. Ceci concorde une nouvelle fois avec les observations de HESLING (1957b), selon lesquelles le parasite se multiplie moins activement dans la nature qu'au laboratoire. La faiblesse de l'attaque a été confirmée par la hauteur totale des plantes en fin de végétation ainsi que par leur poids sec et la taille des épis. Le graphique ci-dessous résume ces résultats (cf. illustrations en fin de mémoire), (Fig. 75).

On constate immédiatement qu'aucune différence nette n'apparaît entre les plantes atteintes et les témoins. Plusieurs hypothèses peuvent expliquer ce fait. Tout d'abord, vus la quantité énorme de matériel à extraire(4 tonnes de sol ont été nécessaires) nous n'avons pu travailler avec le même soin que lors des expériences en serre, et les kystes ont pu souffrir d'une dessication qui aurait réduit leur viabilité. Ensuite, l'utilisation du sable pour aérer le milieu a pu favoriser le lessivage des kystes et des larves lors des arrosages quotidiens entraînant ainsi des pertes d'inoculum supérieures à celles qui surviennent en pots. Enfin, les conditions climatiques très différentes ont certainement contribué en grande partie à accentuer les écarts entre les deux expériences.

3 - Agressivité particulière de la population lauragaise d'H. avenae.

a - Diagnose du biotype.

L'étude de la résistance des céréales vis-à-vis d'H. avenae est fort complexe. En effet, il faut tenir compte non seulement des caractères génétiques de l'hôte, mais aussi de la plasticité de ceux du parasite qui détermine l'apparition de biotypes et de races. Comme nous l'avons vu précédemment, ces faits gênent considérablement la sélection de types résistants, car des variétés très sensibles dans certaines régions le sont peu ou pas dans d'autres. Chez H. avenae on ne connaît l'existence de biotype que depuis quelques années. A partir de 1958, ANDERSEN au Danemark relève des différences dans le comportement des populations d'H. avenae et pense qu'elles sont dues à l'existence de plusieurs biotypes.

.../...

L'année suivante, il décèle à l'aide de variété d'orge et d'avoine la présence de deux types de populations, l'une "non agressive" ou race n°1 et l'autre "agressive" ou race n°2. Il note aussi la présence de populations intermédiaires ayant des caractères propres ou provenant de la conjugaison des deux types précédents. L'auteur a utilisé comme variétés différentielles pour les orges : Herta, Drost, Alfa et Hordeum pallidum var. n°191 et pour les avoines : Sun II et Avena sterilis

Au Pays-Bas, les résultats obtenus par KORT, DANTUMA et ESSEN (1964) à l'aide des variétés danoises d'ANDERSEN, indiquent la présence de 4 biotypes d'H. avenae qui sont dénommés A, B, C, D et qui seraient eux-mêmes différents des biotypes danois. Des recherches sur les variétés résistantes entreprises en Angleterre et au Pays de Galles suggèrent à COTTEN (1963) l'existence dans ces régions d'au moins deux biotypes. Par la suite, FIDDIAN et KIMBER (1964) confirment cette hypothèse en utilisant les variétés danoises : Proctor, Drost et Hordeum pallidum var. n°191. Ils concluent que les deux biotypes anglais ont un comportement identique à ceux du Danemark et trouvent aussi, comme ANDERSEN, des populations à caractères intermédiaires. Les renseignements enregistrés ces dernières années, par le laboratoire d'analyse de la Station de Nématologie d'Antibes, laissent également présumer l'existence de plusieurs biotypes dans des populations françaises d'H. avenae. Ce sujet très nouveau et très vaste n'a pu être abordé dans sa totalité et nous avons surtout porté notre attention sur la population du Lauragais. Le Dr ANDERSEN nous a fort aimablement confié ses variétés différentielles, les orges : Herta, Alfa, Maja et Hordeum pallidum var. n°191, et l'avoine : Sun II. Nous avons ajouté en fonction de nos données le blé "Bidi 17" qui étant très sensible témoignait de l'activité de Nématode et servait de base de comparaison.

Les sols utilisés pour notre étude avaient cinq origines différentes. Quatre provenaient directement de champs très infestés des environs de Castelnaudary, tandis que le cinquième était constitué par de la terre infestée de la même région, mais ayant séjourné 3 années consécutives à Antibes.

L'inoculum choisi fut environ de 10.000 oeufs embryonnés par kg. de sol et pour ajuster les diverses populations à ce taux, la terre infestée fut diluée avec du sable alluvionnaire.

Ce sable présente l'avantage d'alléger le milieu et permet ainsi une extraction plus aisée des racines en fin d'expérience. Nos résultats définitifs sont exclusivement basés sur la présence ou l'absence de kystes sur les racines.

.../...

Pour plus de précision, cette étude fut répétée pendant trois périodes correspondant respectivement au début, au milieu et à la fin de la période d'activité de l'espèce.

Les 5 populations suivies se sont comportées à peu près de façon identique et semblent constituer un groupe assez homogène malgré leurs origines différentes impliquant des milieux édaphiques de nature plus ou moins éloignée. Nos observations sur les variétés danoises de référence montrent que ce biotype forme de nombreux kystes sur les orges : Maja, Herta et Hordeum pallidum var. n°191, mais qu'il n'attaque pas les orges : Alfa et Drost, ni l'avoine : Sun II.

Le tableau ci-dessous permet de placer le biotype du Lauragais par rapport aux différents biotypes européens, en fonction de son agressivité vis-à-vis d'une gamme d'hôtes communs.

Les signes (+) et (-) indiquent respectivement la présence et l'absence de kystes sur les racines.

Détermination des différents biotypes d'H. avenae par action différentielle sur des hôtes sélectifs.

PAYS	Références Bibliographiques.	RACE	DIAGNOSE
Danemark	ANDERSEN (1958, 1959, 1961 et 1965)	1	:Drost (-), Sun II (+), H. :pallidum var. n°191 (-)
		2	:Drost (+), Sun II (+), H. :pallidum var. n° 191 (-)
Pays-Bas	KORT, DANTUMA et ESSEN (1964)	A	:Drost (-), Sun II (+), :H. pallidum var. N° 191 (-)
		B	:Drost (-), Sun II (-), :H. pallidum var. n° 191 (+)
		C	:Drost (+), Sun II (+), :H. pallidum var. n°191 (-)
		D	:Drost (-), Sun II (-), :H. pallidum var. n°191 (-)
Angleterre et Galles	COTTEN (1963) FIDDIAN et KIMBER (1964)	1	:Drost (-), Proctor (+), :H. pallidum var. n°191 (-)
		2	:Drost (+), Proctor (+), :H. pallidum var. n°191 (-)
France	(1966)	Fr 1 (1)	:Drost (-), Sun II (-), :H. pallidum var. n°191 (+)

(1) - Fr 1 - Cette abréviation indique d'une part que la race est française et le chiffre 1 signifie qu'il s'agit d'un premier biotype caractérisé dans ce pays.

.../...

On voit d'après ce tableau que la variété d'orge "Proctor" joue en Angleterre un rôle semblable à celui de la variété d'avoine Sun II au Danemark. Si l'on ajoute que selon des travaux antérieurs de JONES et MORIARTY (1956) la variété Sun II est également attaquée par les populations anglaises, on peut dire que les biotypes danois et britanniques sont très voisins. Par ailleurs, il apparaît clairement que les populations hollandaises sont distinctes des deux précédentes et en particulier de la race B qui est la seule à attaquer H. pallidum var. n°191. Cette dernière semble assez proche de la race lauragaise (Fr 1), qui se multiplie également sur H. pallidum var. n° 191 et qui, comme elles, ne parasite ni l'orge "Drost" ni l'avoine "Sun II". On s'aperçoit cependant qu'il existe des hôtes différentiels entre elles, si l'on compare sur une gamme d'hôtes commune l'agressivité donnée par KORT (1964), pour la race B et celle de notre biotype Lauragais.

Différenciation entre la race B hollandaise et la race Fr 1 Lauragaise par action différentielle sur une gamme d'hôtes commune.

Graminées testées	B	Fr 1
Drost	-	-
H. pallidum var. n°191	+	+
Sun II	-	-
A. sterilis	-	-
Lolium perenne	+	+
Phleum pratense	-	-
Festuca pratensis	+	-
Poa pratensis	+	-
Dactylis glomerata	-	+

Ajoutons que KORT rapporte que cette race B est comme la race Fr 1, moins dangereuse pour les avoines mais malheureusement nous ignorons encore ses réactions à l'égard du blé.

Ces recherches n'ont porté que sur une zone assez restreinte par rapport aux surfaces importantes consacrées en France aux cultures céréalières. Aussi leur portée restera-t-elle encore réduite jusqu'à ce que d'autres études portant sur des régions différentes viennent compléter nos observations.

b - Etude de la gamme d'hôtes de la race Fr 1.

Les travaux préliminaires concernant l'étude de la gamme d'hôtes de la population du Lauragais ont été conduits simultanément et de la même façon que ceux qui ont été décrits pour la définition de la race. La liste ci-après indique toutes les graminées testées. L'intensité de l'infestation

.../...

a été représentée par un nombre de signes (+), variant de un à trois selon la quantité de kystes trouvés sur les racines. Le signe (-) traduit l'absence d'attaque.

Agressivité de la race Fr 1 d'Heterodera avenae vis à vis d'une série de graminées testées.

Graminées	Kystes dans les racines	Aspect coralliforme des racines.
BLES:		
Bidi 17	+++	Très marqué
Capitole	+++	Très marqué
Dr Mazet	+++	Modéré
Etoile de Choisy	++	Léger
INRA 888	++	Modéré
INRA 923	+++	Très marqué
Languedoc	+++	Très marqué
L.D. 308	+++	Très marqué
Magali	+++	Très marqué
Moisson	++	Modéré
Montferrier	+++	Très marqué
Sentry	+++	Très marqué
Triticum turgidum	++	Modéré
ORGES :		
Ager	++	Modéré
Alfa	-	Néant
Arès	+++	Très marqué
Drost	-	Néant
Grignon	++	Modéré
G.V. 380	++	Modéré
Herta	+++	Très marqué
Ingrid	++	Léger
Maja	+++	Très marqué
n.r. 191 = H. pallidum	++	Modéré
53-5	+++	Très marqué
AVOINES :		
Avena brevis	-	Néant
A. fatua	-	Néant
A. ludociciana	+	Léger
A. sterilis	-	Néant
Blanche neige	++	Modéré
Prieuré	+	Léger
Rouge d'Algérie	++	Modéré
Sun II	-	Néant
MAIS :		
Ia. 4417	-	Néant
Illinois 3152	-	Néant
Pionner 371	?	Néant
Pionner 377-A	-	Néant
Pionner 388	-	Néant

.../...

SORGHO :		
NK-120	-	Néant
SEIGLE :		
Secale céréale	++	Modéré
GRAMINEES FOURRAGERES OU SPONTANEES		
Agrostis gigantea	-	Néant
A. tenuis	-	Néant
Agropyron caninum	-	Néant
Aegilops triuncialis	-	Néant
Aeernatherum elatius	+	Néant
A. avenaceum	++	Néant
Beckmannia crucaeformis	-	Néant
Bromus arvensis	+	Léger
B. commutatus	-	Néant
B. macrostachys	+	Néant
B. rigidus	+	Néant
B. rubens	-	Néant
Dactylis glomerata var. Praerial	+	Néant
Elymus canadensis	-	Néant
E. caput-medusae	-	Néant
E. europaeus	-	Néant
E. glacus	-	Néant
E. virginicus	-	Néant
Festuca KENTUCKY	+	Néant
F. ovina	++	Néant
F. pratensis var. Daphné	-	Néant
F. rubra	+	Néant
Koeleria gracilis	-	Néant
K. valiesiana	-	Néant
Lepturus cylindricus	-	Néant
Lolium pacey	+	Néant
L. perenne	+	Néant
Luzula nivea	-	Néant
Melica pyramidalis	-	Néant
Muehlenbergia mexicana	-	Néant
Orysopsis miliacea	-	Néant
Paspalum digitaria	-	Néant
Panicum miliaceum	-	Néant
Phalaris minor	-	Néant
Phleum pratense	-	Néant
Poa caesia	-	Néant
P. memoralis	-	Néant
P. palustris	-	Néant
P. pratensis	-	Néant
Polypogon monspeliensis	-	Néant
Sesleria cylindrica	-	Néant
Setaria viridis	-	Néant
Stipa pennata	-	Néant
Trisetum paniceum	-	Néant

On remarque, d'après ce tableau, que la race lauragaise Fr 1 attaque les 7 nouvelles graminées suivantes : Avena ludoviciana, Lolium pacey, Festuca KENTUCKY, Arrhenatherum avenaceum, Bromus rigidus, B. macrostachys

.../...

et Triticum turgidum. Certaines d'entre elles avaient déjà été testées par THOMAS, BROWN et WILLIS (1946), DUTHOIT et NEWTON (1953), WINSLOW (1954), ainsi que DUGGAN (1959), mais elles s'étaient révélées comme résistantes vis-à-vis des biotypes considérés.

Notons d'ailleurs qu'aucune de ces variétés ne figure dans la liste des hôtes établie par FRANKLIN, GOODEY et HOOPER (1965). Ainsi que nous l'avions déjà signalé, le comportement de graminées variées à l'égard d'H. avenae s'avère donc fort différent suivant les auteurs.

En ce qui nous concerne, nous avons pu observer une certaine variation dans la taille des kystes suivant les graminées spontanées éprouvées, mais aucune recherche approfondie n'a été entreprise sur ce point.

Relativement aux céréales cultivées, nos expérimentations conduites avec la population lauragaise ont montré que le blé constituait l'hôte le plus favorable par rapport aux orges, aux avoines et aux maïs. En effet, toutes les variétés de blé testées ont été attaquées et surtout "Bidi 17", Dr Mazet, Magali, I.N.R.A 923, Languedoc, Sentry, Montferrier, Capitole, ainsi que la nouvelle variété L.D. 308, récemment obtenue par la Coopérative Agricole Lauragaise à Castelnaudary. Parmi les orges les plus touchés, il faut citer les variétés : 53-5 et Arès.

Les avoines commerciales, Blanche-neige, Rouge d'Algérie et Prieuré se sont avéréesassez tolérantes et ont présenté une croissance à peu près normale, malgré la présence de kystes sur les racines. Sur l'unique variété de Sorgho, NK 20, nous n'avons jamais observé la présence d'H. avenae. Il en a été généralement de même pour les maïs, bien que nous ayons trouvé quelques kystes enfouis dans les tissus radiculaires de la variété "Pionner". Ces kystes étaient d'ailleurs petits, rabougris et ne renfermaient pas d'oeufs.

On peut penser que les larves infestantes sont capables de pénétrer dans les radicelles de ces plantes, mais qu'elles n'y trouvent pas ensuite des conditions favorables à leur développement. Cette pénétration initiale pourrait expliquer les dépérissements des parties aériennes que nous avons remarqués lors de nos recherches. On peut supposer qu'il y a bien eu invasion du végétal par les larves, mais que celles-ci n'ont pu évoluer correctement tout en provoquant cependant les dégâts observés.

On doit souligner ici que les observations de plusieurs auteurs anglais : JONES et MORIARTY (1956), HESLING (1957b) et STONE (1960), ainsi que celles du hollandais KORT (1959) et de l'irlandais DUGGAN (1958-1961a), font état au contraire d'une plus grande augmentation des populations du parasite avec l'avoine qu'avec le blé ou l'orge. De plus, STONE et KORT rapportent que le seigle est un mauvais hôte en Angleterre, alors qu'il se comporte tout autrement pour la population du Lauragais, ainsi qu'on peut

le constater sur la liste des graminées étudiées.

Bien que l'avoine soit considérée dans la plupart des pays comme le meilleur hôte pour H. avenae, on n'en a pas moins constaté des dégâts importants sur le blé. La seule population déjà décrite qui semble se rapprocher de la nôtre, et celle dont fait état MILLIKAN (1938a), en Australie.

C - CONCLUSIONS ET DISCUSSION.

Les relations hôte-parasite, entre les graminées et H. avenae, revêtent tous les aspects que l'on peut rencontrer dans de semblables associations, aussi bien en ce qui concerne d'autres espèces de Nématodes que dans des disciplines voisines telles que l'Entomologie par exemple.

Ces relations ne concernent que la phase biologique de l'animal au cours de laquelle il vit au détriment de l'hôte en se comportant en phytophage exclusif.

Pendant cette phase sédentaire, le Nématode occasionne des dommages graves aux céréales et il a en outre la faculté de survivre plusieurs années dans le sol, même après de longues jachères grâce à ses possibilités de développement et de multiplication sur un grand nombre de graminées spontanées.

Ceci souligne l'importance de ces "plantes réservoirs" et l'intérêt que l'on doit porter aux recherches sur les gammes d'hôtes. Des graminées sauvages extrêmement communes réduisent considérablement certains avantages que l'on peut espérer des assolements. Elles constituent pour H. avenae un moyen supplémentaire de survie qui vient s'ajouter à la résistance sous forme de kystes. Dans le Lauragais par exemple, et plus particulièrement à Castelnaudary, on rencontre fréquemment parmi les mauvaises herbes, les cinq graminées suivantes : Avena ludoviciana, Bromus arvensis, B. macrostachys, Festuca ovina et Lolium perenne, qui supportent sans grand dommage l'attaque du Nématode tout en lui permettant de maintenir ses populations.

La question des races doit retenir notre attention, car une meilleure connaissance du comportement d'H. avenae dans certaines régions pourrait éviter des échecs graves et apporter quelques fois des solutions plus efficaces permettant de conserver certaines céréales dans les assolements. La valeur de ces notions apparaît très distinctement si l'on ajoute que les produits nématicides actuels sont pratiquement inefficaces dans la lutte contre H. avenae et que leur prix de revient est beaucoup trop élevé pour de telles cultures.

CONCLUSIONS GENERALES

Depuis quelques années, on prend progressivement conscience des problèmes posés par les Nématodes phytophages et des dégâts insidieux appelés souvent "fatigues des sol" qu'ils provoquent à maintes cultures. Cependant un grand nombre de ceux-ci restent encore à l'état de constatations inexpliquées, l'action des Nématodes étant peu évidente en raison de la variabilité des symptômes qu'ils occasionnent et qui, la plupart du temps, échappent à l'observation des agriculteurs. Les dommages causés aux céréales par H. avenae en constituent un exemple frappant et il était intéressant dans un pays céréalier comme la France de montrer l'importance de ce parasite.

Nos enquêtes, venant compléter les connaissances déjà acquises, ont permis d'identifier de façon sûre H. avenae dans 24 départements français et l'on peut penser qu'en fait il est présent partout. La production française actuelle des céréales (1965) s'élève approximativement à 140 millions de quintaux pour le blé tendre, 70 millions de quintaux pour l'orge (qui tend à remplacer l'avoine), 25 millions de quintaux pour l'avoine et enfin 4 millions de quintaux pour le seigle. Or, d'après de nombreuses observations effectuées depuis peu dans plusieurs départements, on peut estimer la baisse de production moyenne due aux attaques de ce parasite à environ 2 %. Ceci fait ressortir l'importance du Nématode à l'échelon national et nous permet d'envisager aisément les dégâts qui lui sont imputables sur le plan mondial.

En étudiant cette espèce plus particulièrement dans le Lauragais, nous avons pu constater que les dommages qu'elle occasionne sont bien supérieurs à la moyenne précédemment citée pour l'ensemble de la France : il est très difficile d'évaluer, par rapport à une seule cause, les pertes occasionnées à une récolte. Toutefois dans certains champs très infestés, nous avons parfois assisté à un anéantissement tel des cultures que les champs étaient retournés quelques mois après les semailles pour installer une nouvelle plante résistante au parasite.

Partant de l'étude d'une population implantée dans cette vieille région céréalière, très atteinte par ce Nématode, nous avons essayé de présenter les multiples aspects que peuvent prendre les recherches vis-à-vis du "problème H. avenae" en général. Nous nous sommes en cela fortement appuyés sur les travaux déjà réalisés dans des pays voisins, ce qui nous a permis de souligner un certain nombre de différences dues aux conditions régionales dans lesquelles évolue l'espèce.

- La partie expérimentale de ces études a nécessité l'amélioration ou la mise au point de nouvelles techniques d'extraction, de comptage et d'élevage :

Par exemple, pour les extractions on a modifié l'appareil classique de Fenwick de manière à récupérer, par un processus accéléré de flottaison, les jeunes kystes qui s'humidifient et s'alourdissent très vite. Cette propriété a, au contraire, été utilisée pour purifier le matériel recueilli avec un appareil dérivé de l'élutriateur d'HESLING. On a enfin beaucoup amélioré cette purification par la réalisation d'un aspirateur dit "micropipette à succion constante" permettant aussi les comptages.

Nous avons également précisé quelques données concernant l'échantillonnage dont les modalités doivent varier selon l'espèce envisagée, en particulier le poids minimum de l'échantillon représentatif et la méthode de dénombrement des oeufs et des larves.

D'autre part, une technique d'élevage où la contamination est faite sur une plante semée dans du sable où le développement du parasite se poursuit sur la même plante mise sur une solution nutritive a permis d'étudier les modalités de la reproduction en tenant compte de l'action du milieu à la fois sur la plante et sur le parasite.

- Nous nous sommes d'abord atttaché à bien préciser la morphologie et l'anatomie d'Heterodera avenae en donnant les caractères et l'ensemble des mensurations de tous ses stades successifs : oeuf, larves de différents âges mâle et femelle et kyste formé par la transformation de cette dernière en une enveloppe protectrice de sa ponte. Nous avons particulièrement étudié la larve du deuxième stade qui présente un grand intérêt puisqu'elle correspond à la forme de résistance infectieuse survivant dans le kyste (c'est elle que l'on retrouve dans celui-ci et qui doit souvent contribuer à l'identification de l'espèce dans le genre Heterodera). La population a, de ce point de vue, les chiffres de mensuration les plus élevés signalés jusqu'alors pour l'espèce.

Au cours de cette étude, nous avons pu mettre en évidence de manière indiscutable une première mue à l'intérieur de l'oeuf dont l'existence n'était pas prouvée dans l'espèce. Par contre, nous n'avons pas retrouvé la 4ème mue chez le mâle, et contrairement à d'autres auteurs, nous pensons qu'elle n'y existe pas ; le troisième stade larvaire se continue par une métamorphose sans apparition de tégument nouveau qui conduit à la différenciation du mâle adulte beaucoup plus long et filiforme. Ce "stade nymphal" correspondrait au quatrième stade habituel chez les autres Nématodes.

.../...

- Le fait dominant dans la biologie du parasite est la forme de résistance spéciale, le kyste contenant des oeufs embryonnés pouvant survivre durant plusieurs années en l'absence d'hôte : ces kystes apparaissent assez variables dans leur forme et dans leurs dimensions et, à côté de leur étude anatomique et morphométrique, nous avons tenté d'établir la relation entre leurs dimensions, le nombre et la taille des oeufs contenus et la longueur des larves finalement émises. L'analyse statistique de 7 paramètres caractérisant ces données a souligné un certain nombre de corrélations.

Nous avons constaté, d'autre part, en déterminant l'ordre des variables par une analyse progressive de covariance, que la meilleure estimation du nombre d'oeufs contenus dans un kyste est fournie grâce à la longueur de l'oeuf et à la largeur du kyste. Une loi de régression a été dégagée donnant une formule simple permettant d'estimer rapidement cette donnée importante avec un minimum de mesures (le nombre d'oeufs par kyste qui caractérise la fécondité de l'individu doit être précisé dans de multiples recherches biologiques).

Il est très vite apparu que les oeufs embryonnés, contenus dans le kyste étaient en véritable "diapause", difficile à rompre dans les conditions expérimentales du laboratoire et nous avons essayé de définir le moment où cet état s'installait après que l'oeuf ait commencé à se développer.

Ainsi en étudiant le cycle biologique d'Heterodera avenae, nous avons apporté une attention toute particulière à l'embryogenèse dont toutes les phases ont été détaillées et décrites avec leur chronologie respective, (à la température de 20°C) : à partir de la séparation des deux premiers blastomères, on arrive après 24 heures à un stade caractéristique de 5 blastomères, le stade morula est atteint le 5ème jour, la gastrulation se produit durant les 7 et 8ème jours et les ébauches des principaux organes apparaissent le 12ème et 13ème jour dans un embryon ayant acquis son apparence vermiforme. La 1ère mue a lieu le 14ème jour dans l'oeuf après un 1er stade fugace durant lequel l'embryogenèse s'est poursuivie.

Le 2ème stade particulièrement important comporte trois phases : d'abord durant 4 jours les différents organes larvaires acquièrent leur structure et leur aspect définitif dans l'embryon dont les mouvements à l'intérieur du chorion cessent progressivement pour aboutir à une position de repos. La deuxième phase qui débute donc 18 jours après le début de la segmentation correspond à l'installation de la diapause obligatoire ; la troisième est représentée par la larve infectieuse qui, après la reprise d'activité, s'échappe de l'oeuf, puis du kyste quand les conditions sont favorables, et pénètre dans les racines d'un hôte.

.../...

Les mues se succèdent dans les tissus radiculaires où le Nématode vit en endoparasite et le 3ème stade est atteint 9 jours après l'infestation. Dès le 16ème jour, on peut distinguer le sexe grâce à la forme de l'ébauche génitale et le développement s'achève de manière très différente pour le mâle et pour la femelle :

La larve mâle se contracte dans l'embryon à partir du 18ème jour, puis subit la métamorphose avec une histolyse apparente de tous les organes suivie d'une histogenèse progressive de l'adulte qui atteint, en même temps, sa maturité sexuelle, la métamorphose demande environ dix jours et les mâles s'échappent dans le sol entre le 28ème et le 35ème jour.

La larve femelle a un développement plus continu, après avoir subi deux nouvelles mues, elle parvient à l'état adulte à partir du 32ème jour suivant l'infestation ; elle apparaît à ce moment comme un petit citron blanchâtre et elle reste dans cet état durant un à deux mois pendant que les oeufs, après la fécondation, poursuivent leur développement jusqu'au stade de larve du 2ème stade en diapause - le brunissement du tégument et son évolution en kyste brun interviennent environ 100 jours après la contamination initiale par la larve infectieuse.

- Nous avons étudié plus particulièrement les modalités de la fécondation dans cette espèce où la femelle sédentaire a une maturation relativement lente alors que le mâle se développe plus rapidement. Une sécrétion périnéale abondante émise par la femelle, la "matrice gélatineuse" joue un grand rôle en fournissant le support permettant l'accouplement ; celui-ci a toujours lieu de façon précoce quand la femelle est encore très jeune.

On a tenté de multiplier parthénogénétiquement le Nématode car ce mode de reproduction a été signalé chez plusieurs autres espèces d'Heterodera. La technique de culture indiquée précédemment qui ne laisse pas aux mâles la possibilité d'entrer en contact avec les femelles, a montré qu'une fécondation est obligatoire pour obtenir une production de larves.

L'étude de la répartition des sexes montre qu'en règle générale les mâles sont beaucoup plus abondants que les femelles (70 % et 30 % respectivement des individus arrivant à maturité dans les conditions expérimentales). Cette proportion n'est pas constante en fait dans la nature et le nombre des mâles augmente quand la période d'activité du Nématode approche de son terme. Il apparaît nécessaire de poursuivre cette étude plus loin que nous ne l'avons fait pour dissocier une action physiologique possible de l'hôte plus âgé, d'un phénomène plus simple de surpopulation qui favoriserait le mâle dont la période de nutrition est beaucoup plus brève. Le déterminisme du sexe

.../...

semble, dans ce cas, avoir une origine plutôt génétique, car aucune inversion n'a jamais été constatée durant l'évolution larvaire.

Une partie importante de notre travail a été consacrée à l'étude de la diapause d'H. avenae et surtout aux facteurs permettant la levée de dormance. De nombreuses expériences de laboratoire ont testé de ce point de vue le contact avec des eaux de diverses qualités, avec différents substrats, avec des extraits végétaux, avec des acides organiques ou inorganiques et enfin les chocs thermiques. A l'exception de la température aucun de ces traitements n'a montré une action positive. En particulier l'action des excrétions radiculaires ou de broyats d'autres parties des plantes-hôtes qui détermine l'éclosion larvaire pour d'autres espèces du genre, s'est révélée ici nettement inhibitrice ainsi que d'autres auteurs l'avaient déjà remarquée.

Au contraire, l'action de la température est fondamentale : si le kyste est maintenu à des températures constantes comprises entre 2 et 20°C on a un optimum d'émergence à 13°C. Les éclosions sont beaucoup plus nombreuses avec un choc thermique, après avoir soumis des lots à des températures plus ou moins basses pendant un temps variable et en les replaçant à 20°C, on a constaté que l'optimum était donné par une période préliminaire de 4 semaines à 2°C.

- Si la température a un rôle important dans la levée de diapause, elle intervient sur d'autres phases de l'activité d'Heterodera avenae en même temps que les autres facteurs écologiques. Nous avons alors tenté de préciser quelques aspects de l'écologie de l'espèce dans le milieu naturel de la population étudiée.

Dans ce domaine très vaste, nous nous sommes limités à l'étude de l'évolution des stades larvaires et des adultes au cours d'une génération en fonction des facteurs climatiques du Lauragais. Le début de l'activité du Nématode se manifeste par l'éclosion des larves qui, très échelonnée, se poursuit du début du mois de novembre à la fin du mois d'avril ; nous avons suivi le développement larvaire dans les racines de l'hôte (le blé) et précisé la durée de chacun des stades. La sortie des mâles s'échelonne de la mi-février à la mi-juin et l'apparition à la surface des racines des femelles adultes commence vers la mi-mars et dure jusqu'à la fin du mois de juin. Les adultes rencontrés plus tardivement sur les repousses proviennent d'éclosions tardives et exceptionnelles. Il est donc difficile de préciser rigoureusement la durée du cycle dans la nature car l'hôte héberge le parasite à tous ses stades.

.../...

Le critère essentiel de l'activité de l'espèce demeure l'éclosion larvaire qui doit coïncider avec la présence de l'hôte à un stade réceptif ; des essais réalisés dans des coffres de culture et les observations faites en plein champ à Castelnaudary indiquent qu'il existe dans certaines limites une relation inverse entre la température et cette activité, l'optimum que nous avons constaté (situé entre 10 et 15°C) est beaucoup plus bas que celui qui a été indiqué jusqu'à maintenant par les autres auteurs, relativement à des populations établies pourtant dans des contrées plus froides. D'autre part, il est apparu qu'il y avait une relation entre les précipitations et le nombre des éclosions, les pluies favorisant également le déplacement et la survie des larves.

On doit noter que le cycle de la population lauragaise caractérisé par l'alternance d'une période de repos estival et d'une période d'activité hivernale est l'inverse de celui que l'on a toujours observé ailleurs, soit parce que les températures les plus favorables à l'éclosion de l'espèce surviennent à cette saison dans le midi de la France, soit en raison d'un caractère génétique de la population.

- L'étude des relations entre Heterodera avenae, parasite obligatoire, et ses hôtes représente un chapitre fondamental de la connaissance que l'on doit avoir de l'espèce. Parmi les multiples aspects de cette association, nous avons d'abord essayé de préciser la nature des lésions initiales chez le végétal et celle des réactions qu'elles provoquent.

L'influence du taux d'infestation originel du sol a fait l'objet d'une série d'expériences qui ont montré, après analyse statistique qu'il existait une relation directe et significative entre la croissance du végétal et le nombre d' oeufs embryonnés contenus dans le sol : 1.000, 5.000, 10.000 et 20.000 par kg. Ceci quel que soit le critère considéré (hauteur de la plante, poids des différentes parties, longueur de l'épi, nombre et poids des grains). Les variables les plus affectées sont la longueur de l'épi (sans les barbes) et le nombre total de feuilles produites. Réciproquement le taux de multiplication du Nématode dans les racines de l'hôte n'est pas le même selon le niveau de la contamination initiale et il apparaît d'autant plus élevé que cette dernière est plus basse, ce qui résulte sans doute d'une simple concurrence alimentaire.

Nous avons également porté une attention particulière à l'étude de la gamme des plantes hôtes d'H. avenae, aux différences de comportement variétal chez les espèces cultivées les plus importantes et à la recherche d'espèces ou de variétés éventuellement résistantes.

.../...

En contaminant de façon standard 12 variétés de blé, on a constaté qu'elles étaient toutes très sensibles au Nématode ; le taux de multiplication apparaît assez variable puisqu'il est de 2,67 avec la variété "Dr Mazet" (qui a été très cultivée dans la Lauragais), alors qu'il n'atteint que 1,60 avec "Magali".

La résistance des céréales vis-à-vis du Nématode apparaît de plus en plus comme un phanomène très complexe ou interviennent à la fois les caractères génétiques de l'hôte et ceux du parasite qui comprend des races ou des biotypes différents selon les régions.

L'existence de cette hétérogénéité dans l'espèce a été mise récemment en évidence chez H. avenae et nous avons essayé de caractériser de ce point de vue la population lauragaise.

On a aussi testé à plusieurs reprises 7 hôtes différentiels classiques ou nouveaux vis-à-vis de 5 populations distinctes, mais provenant néanmoins toutes de la région lauragaise et la race est apparue comme différente de toutes celles connues précédemment, en ayant un blé comme hôte préférentiel.

La gamme des hôtes possibles de cette race a été précisée en testant plus de 80 espèces ou variétés de graminées ; un petit nombre d'entre elles seulement s'est montré sensible, mais parmi ces dernières 7 espèces sont des hôtes nouveaux pour H. avenae.

- Tous les traits de la biologie d'H. avenae que nous avons précisés permettent de mieux comprendre l'épidémiologie de la maladie vermiculaire qu'il provoque de même qu'ils conditionnent les méthodes de lutte pratique.

Le Nématode doit pour une part son caractère de gravité au fait qu'il est pourvu de moyens de résistance exceptionnels ; comme d'autres espèces du genre, il peut demeurer vivant dans les sols qu'il a contaminé pendant 6 à 10 ans. Le maintien des populations est favorisé par la multitude des graminées adventices capables de l'héberger, ce qui rend inefficace l'application d'une législation comparable à celle instaurée vis-à-vis d'H. rostochiensis qui a peu d'hôtes.

L'espèce est particulièrement nuisible du fait que chaque libération de larves infestantes s'étale sur une période de plusieurs jours au lieu d'être massive. De ce fait, on n'assiste jamais, comme dans d'autres cas, à une mortalité élevée des jeunes larves trop nombreuses pour la nourriture disponible. Il en résulte une stabilité remarquable des populations d'H. avenae implantées dans une région. La diapause à l'état d'oeuf embryonné différencie ce Nématode des autres espèces où l'on trouve un cycle semblable, mais avec des conditions de sortie de dormance très différentes

.../...

qui semblent correspondre plutôt à une fausse diapause. Etant donné qu'H. avenae n'a qu'une génération par an, il lui faut plusieurs années à partir d'une infestation initiale pour atteindre une population correspondant au seuil de nuisibilité. Cependant, lorsque ce niveau est atteint, l'espèce est très solidement établie et son élimination totale est pratiquement irréalisable à l'aide des moyens actuels. Comparativement à H. rostochiensis, le potentiel biotique d'H. avenae est relativement limité, mais par contre son seuil de nuisibilité est moins élevé.

En effet, alors que les dégâts appréciables sur céréales débutent pour H. avenae aux alentours de 25 kystes par kg de sol et que les attaques graves se manifestent à partir d'environ 100 kystes par kg, la "forte infestation" (indicatif V de l'échelle proposée de la conférence internationale sur l'anguillule des racines de pomme de terre) n'est atteinte chez H. rostochiensis que lorsqu'on trouve 1.000 kystes par kg de terre.

Autre caractère de son parasitisme, H. avenae est strictement inféodé aux graminées, ce qui lui laisse une certaine diversité d'hôtes dans une famille botanique très riche et particulièrement importante dans la flore spontanée et cultivée. Comme pour d'autres Nématodes, on a pu déterminer chez H. avenae de nombreuses races physiologiques, mais les résultats acquis sont encore locaux et ne peuvent être généralisés dans une perspective pratique.

Rappelons à ce propos que l'Anguillule des tiges Ditylenchus dipsaci a été largement scindée en plusieurs races biologiques auxquelles de nombreux auteurs ont consacré d'importants travaux. Il ressort d'ailleurs des plus récents d'entre eux, que la question est très complexe et que la notion même de race biologique doit généralement être révisée. On peut déjà se demander si les recherches ne vont pas aboutir chez les Heterodera à des conclusions analogues et si ces races ne sont pas simplement issues d'une sélection de caractères génétiques sous l'effet des conditions culturales. On serait ainsi en présence de biotypes moins tranchés et moins stables que les races, possédant certains traits dominants dans leur comportement. En fait, la résistance de certains végétaux ne provient souvent que de l'existence d'une barrière écologique, l'hôte et le parasite ayant par exemple une période d'activité différente.

Ceci nous conduit à souligner l'importance des facteurs culturaux et plus spécialement de l'époque des semis. Pour soustraire le végétal à des dégâts plus graves et étant donné que l'éclosion des larves infestantes semble indépendante de la présence de l'hôte, on a toujours intérêt à exécuter les semis le plus longtemps possible avant la période d'activité

.../...

du parasite. De cette façon les plantes peuvent se développer suffisamment pour tolérer les attaques ultérieures. Ceci implique une bonne connaissance de l'écologie de l'espèce dans la région considérée. Ainsi, dans le Lauragais, les périodes d'émergence maxima se situant en décembre et en février et mars, il est opportun d'effectuer les semis d'octobre à novembre. Une telle pratique ne permet pas d'éviter l'attaque, mais de la réduire dans des proportions appréciables, Nous pensons que ce sujet mérite un approfondissement car il peut apporter de bons résultats dans les zones fortement atteintes.

Les jachères constituent aussi un bon moyen pour abaisser l'infestation (60 % de la population est éliminée) bien que la réduction soit encore insuffisante. Mais ces jachères peuvent parfois favoriser le développement de graminées spontanées qui entretiennent en partie la population. La culture sur un sol dépourvu des végétaux hébergeant le parasite semble donc préférable.

Nous nous sommes pas penché au cours de notre étude sur les facteurs purement édaphiques qui peuvent agir directement sur la mobilité et les déplacements larvaires, mais on sait que la compacité du sol est défavorable au Nématode et que la façon dont le sol a été labouré, la profondeur du semis, le roulage, etc..., jouent un rôle important dans la manifestation des dégâts.

Il n'est guère concevable actuellement d'envisager des traitements chimiques du sol très dispendieux, mais on doit tenir compte à ce point de vue du fait qu'H. avenae est mieux protégé que beaucoup d'autres Nématodes, par le kyste dans lequel il est en anabiose. Si l'on envisageait d'atteindre le parasite durant la courte phase libre de l'éclosion des larves, l'étalement et la périodicité du phénomène nécessiteraient d'effectuer plusieurs applications en cours de végétation. Ceci n'est pas encore possible en raison de la phytotoxicité de toutes les substances nématicides actuellement connues.

Pour ces raisons il apparaît difficile d'éliminer de façon totale les Heterodera d'une parcelle et le faible taux d'infestation qui demeure peut-être à plus ou moins longue échéance aussi dangereux que la population initiale. Nous avons vu, en effet, que des inoculum moyens ou peu élevés confèrent à la population un haut degré de multiplication. De plus, les produits nématicides en bouleversant les équilibres du sol peuvent éliminer un certain nombre de prédateurs de cette espèce et on aboutit alors à un effet contraire à celui recherché. En ce qui concerne les variétés résistantes de céréales, il risque toujours d'y avoir une adaptation des populations étudiées à la variété sélectionnée en raison de la plasticité génétique des Nématodes du genre Heterodera. Dans d'autres cas analogues de telles sélections n'ont qu'un intérêt relativement local et pour une durée limitée.

En résumé, les recherches que nous avons poursuivies nous ont conduit à améliorer certaines techniques d'extraction et de comptage des Heterodera. En ce qui concerne la biologie, nous avons surtout détaillé les phases de l'embryogenèse en insistant sur celles qui précèdent l'entrée en dormance de la larve du 2ème stade. On a montré aussi qu'il s'agissait là d'une véritable diapause dont on a décrit avec soin les processus semblant régir la rupture. Il a été confirmé que la sortie des larves infectieuses n'était pas conditionnée par des exudats racinaires.

Le problème de la sortie de diapause n'a pu être élucidé de manière complète, mais on aborde là une question très ardue qu'il ne sera pas aisée de trancher dans un avenir proche. De même, il faut déplorer que le déterminisme du sexe reste encore inconnu car sa connaissance apporterait des données très utiles aussi bien au point de vue pratique que scientifique.

Ce travail a permis également de caractériser le comportement de la population du Lauragais et en a fait ressortir l'originalité, surtout en ce qui concerne la période d'activité du Nématode dont nous avons pu tirer des conséquences pratiques.

Etant donné la complexité et l'étendue du sujet, un certain nombre de points intéressants n'ont pu être approfondis comme nous l'aurions désiré. Le fait d'avoir abordé l'étude dans sa généralité s'est avéré assez fructueux car il a souligné de nombreux problèmes sur lesquels devront porter les futures recherches. Les résultats que nous avons rassemblés exigent des informations complémentaires sur un certain nombre de points. Il serait aussi intéressant d'étudier le déterminisme et la nature exacte des races, ce qui implique la connaissance précise de la formation du zygote. Ces considérations sont très utiles du point de vue pratique puisque les races conditionnent en partie l'agressivité de l'animal vis-à-vis de la plante-hôte. Dans l'avenir les recherches les plus urgentes devront porter sur l'étude de la plasticité génétique de l'espèce, c'est-à-dire sur les réactions d'adaptation du Nématode aux conditions climatiques et culturales. En effet, ce que nous considérons actuellement comme "race" n'est peut-être qu'une sélection stable réalisée localement par l'homme. Les modalités de la formation et de l'évolution de ces biotypes sont en grande partie ignorées. Or, ces faits sont intimement liés à l'utilisation des assolements qui demeurent un des moyens les plus accessibles pour maintenir la productivité des cultures céréalières et réduire les dommages dûs au parasite.

Dans la nature, il est difficile d'envisager des études sur les modifications des races en fonction des facteurs externes car elles seraient très longues, nécessiteraient de gros moyens et devraient s'étendre sur

.../...

plusieurs générations. Par contre, nous pensons qu'elles pourraient déjà faire l'objet de recherches préliminaires en laboratoire. Quoi qu'il en soit, il sera aussi très utile de répertorier et d'étudier les différentes populations d'H. avenae existantes en France pour connaître les caractères propres à chacune d'elles. C'est seulement à ce stade que nous pourrons avoir une idée plus exacte de la portée des résultats que nous avons recueillis.

-:-:-:-:-:-

DISTRIBUTION D'HETERODERA AVENAE EN FRANCE

Figure I

REGION DU LAURAGAIS
Villefranche de Lauragais
81
31
11
09
Souilhe
Peyrens
Castelnaudary
Caraman
Mas Stes Puelles
Bouquette
Les Bordes
Villepinte
Pexiora
Bram
Villesiscle
Villasavary
Prouille
Fanjeaux
Lieux de prélèvement

Figure 2

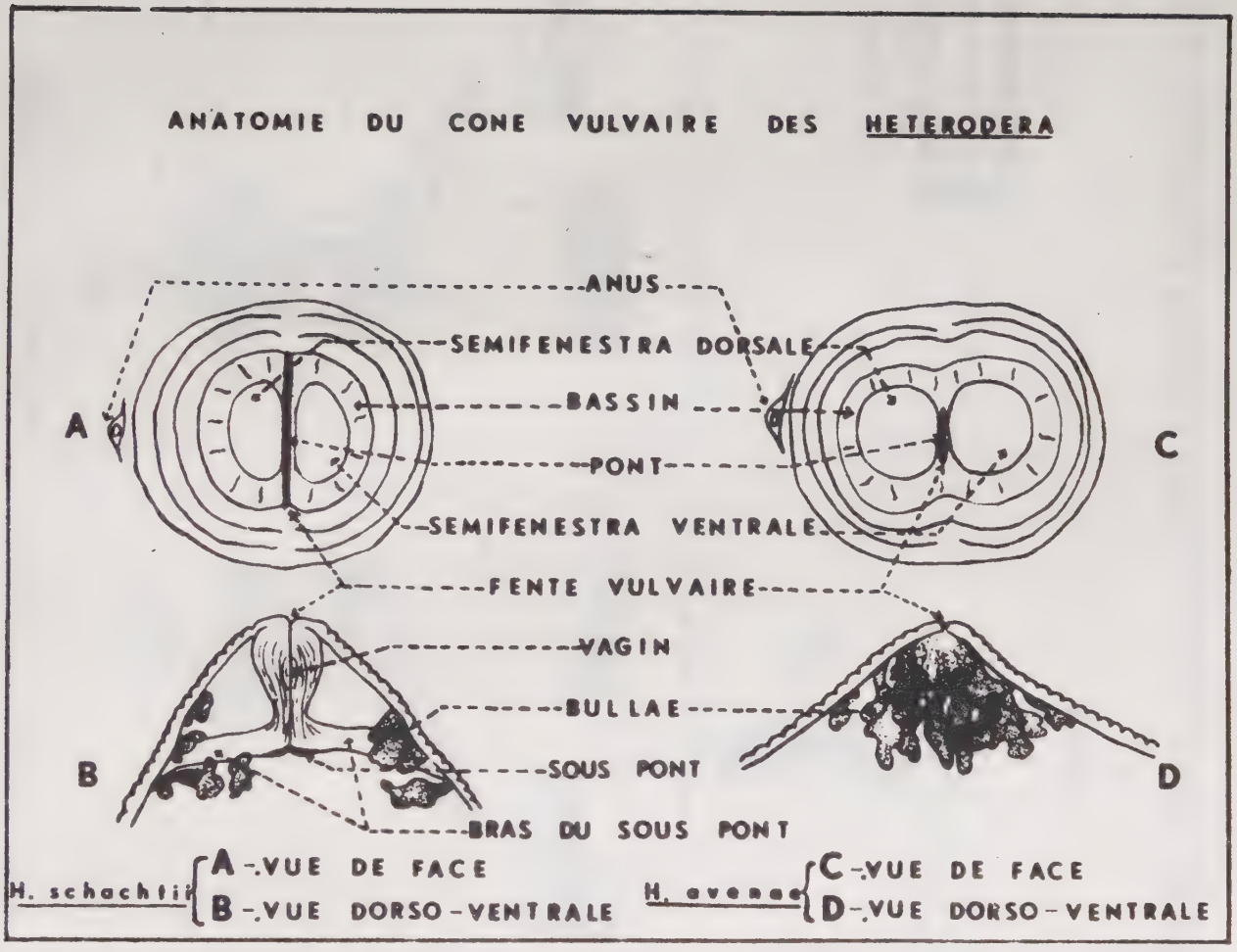


Figure 3 : Cône vulvaire

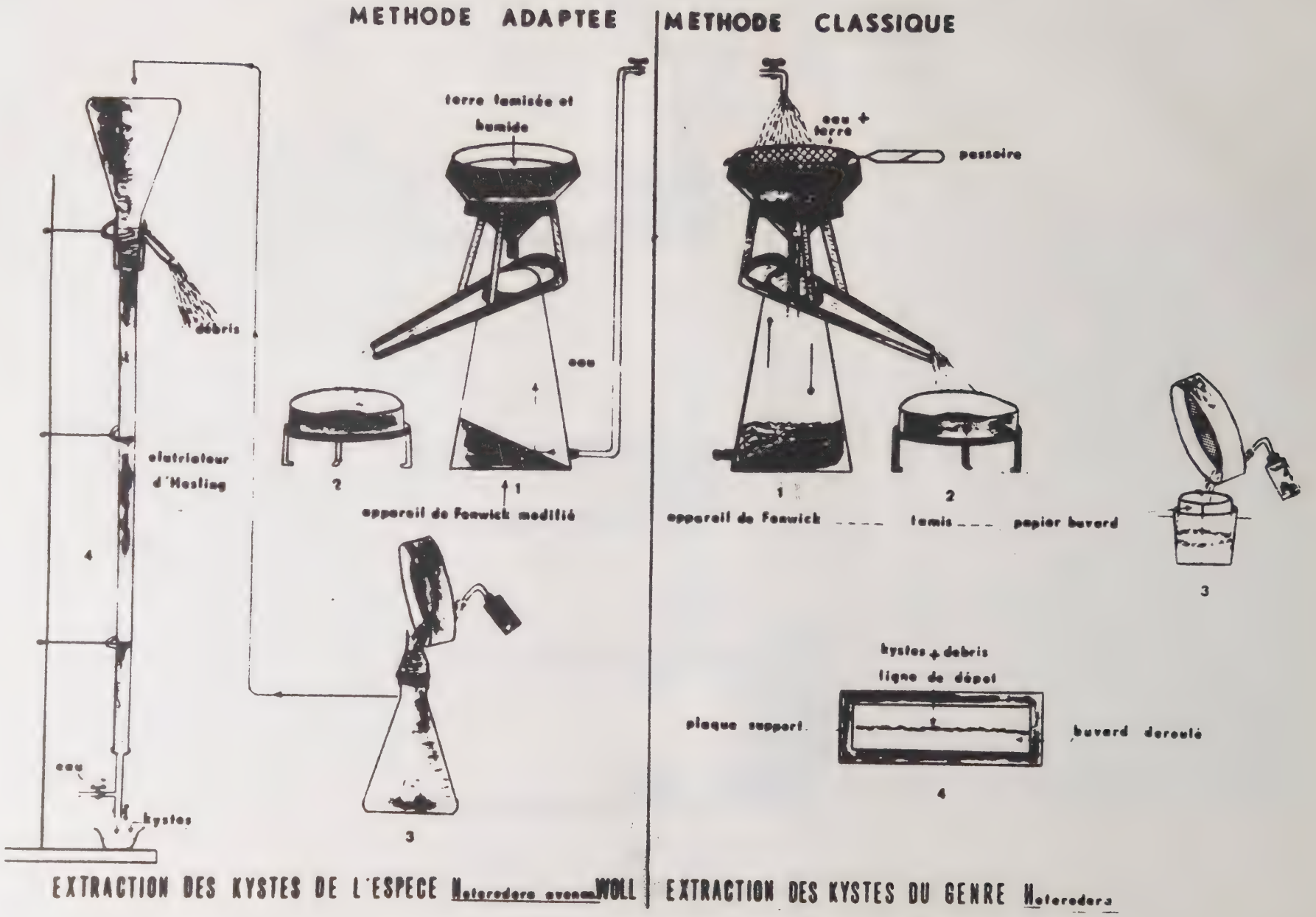

METHODE ADAPTEE
METHODE CLASSIQUE
terre tamisée et humide
eau
débris
élutriateur d'Hesling
kystes
appareil de Fenwick modifié
eau + terre
passoire
appareil de Fenwick ---- tamis --- papier buvard
kystes + débris
ligne de dépot
plaque support
buvard déroulé
EXTRACTION DES KYSTES DE L'ESPECE Heterodera avenae WOLL
EXTRACTION DES KYSTES DU GENRE Heterodera

Figure 4

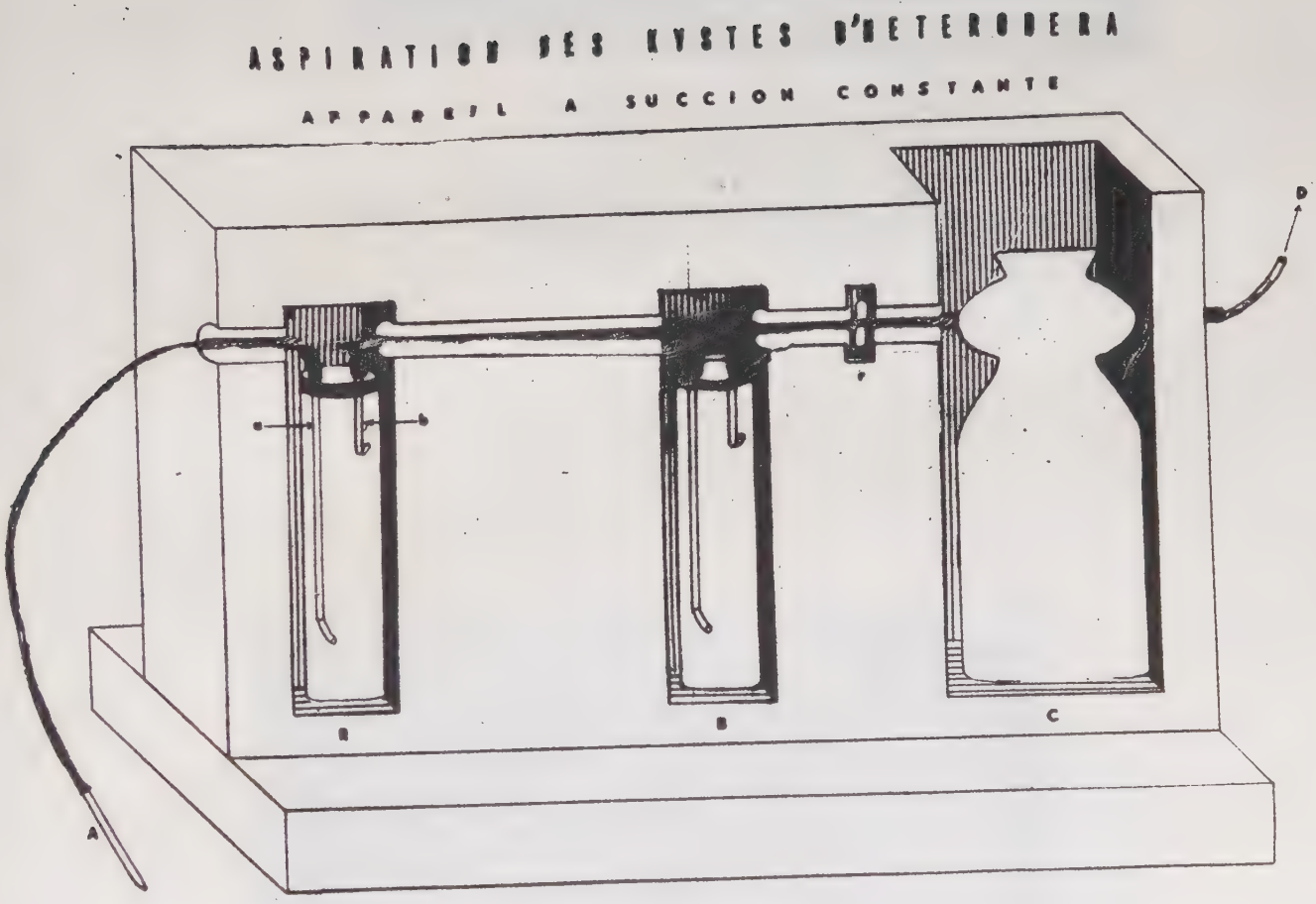

ASPIRATION DES KYSTES D'HETERODERA
APPAREIL A SUCCION CONSTANTE
A
B
B
C
D

Figure 5

Figure 6 - Coffre de multiplication d'Heterodera avenae

Figure 7 - Essais de résistance variétale

Figure 8 - Elevage d'Heterodera avenae en serre

Figure 9 - Essais en pots pour la recherche de la gamme d'hôtes

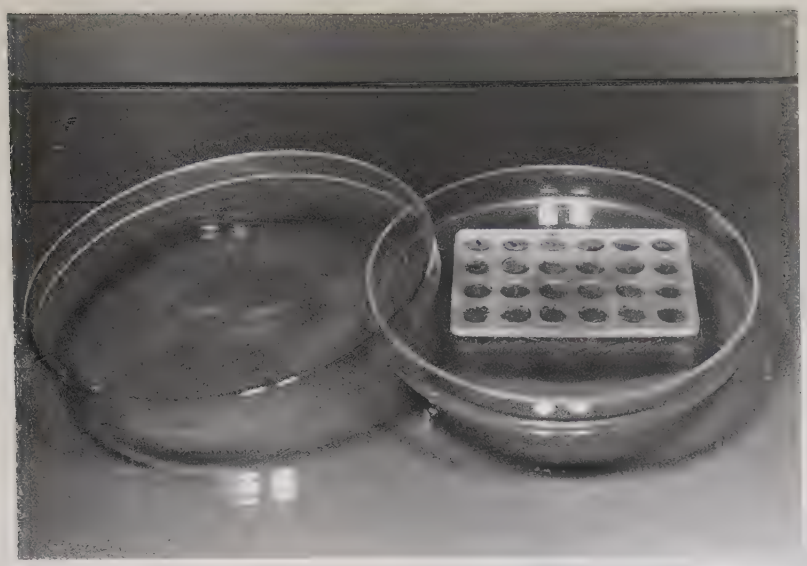


Figure 10 - Lames à concavités multiples pour traitement des kystes.

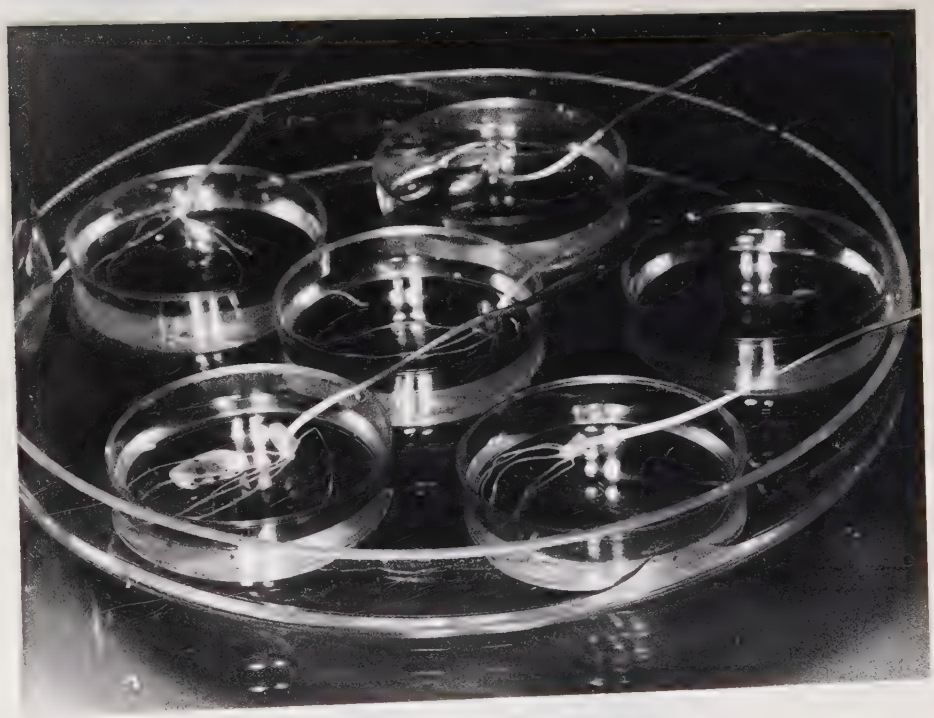


Figure 11 - Mise en contact des kystes avec les racines de céréales

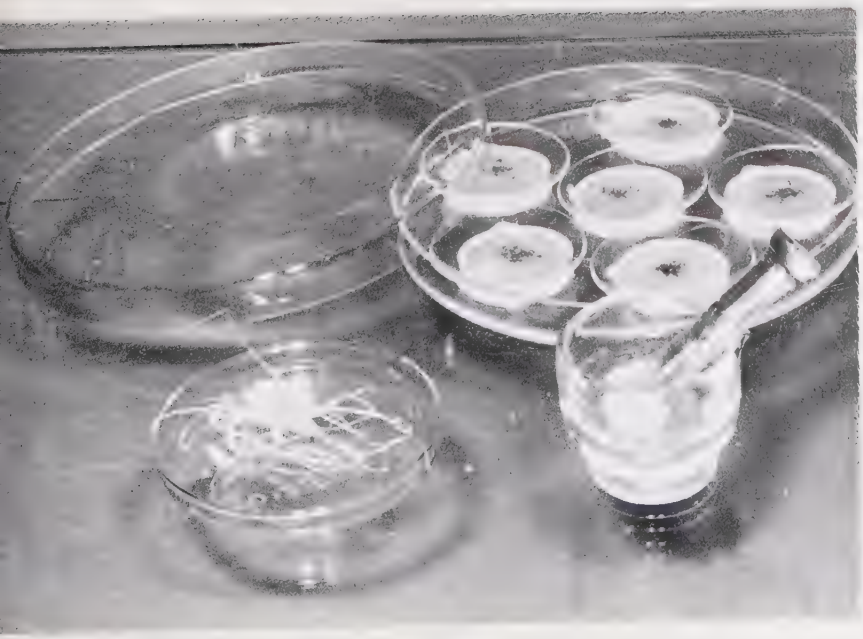


Figure 12 - Mise en contact des kystes avec des broyats végétaux.

Figure 13 : Oeufs embryonnés d'Heterodera avenae

Figure 14 : Larve sortie du chorion

Figure 15 - Larve infectieuse du deuxième stade.

Figure 16 - Extrémité antérieure de la larve.

Figure 17 - Extrémité postérieure montrant la partie hyaline de la queue.

Figure 18 - Larve du 3ème stade tout de suite après la mue

Figure 19 -
En haut: larve femelle à la fin du 3ème stade.
En bas : larve mâle à la fin du 3ème stade.

Figure 20 - Larve mâle au début de la métamorphose.

Figure 21 - Larve mâle pendant la métamorphose.

Figure 22 - Larve mâle à la fin de la métamorphose.

Figure 23 - Mâle se libérant de l'exuvie du 3ème stade.

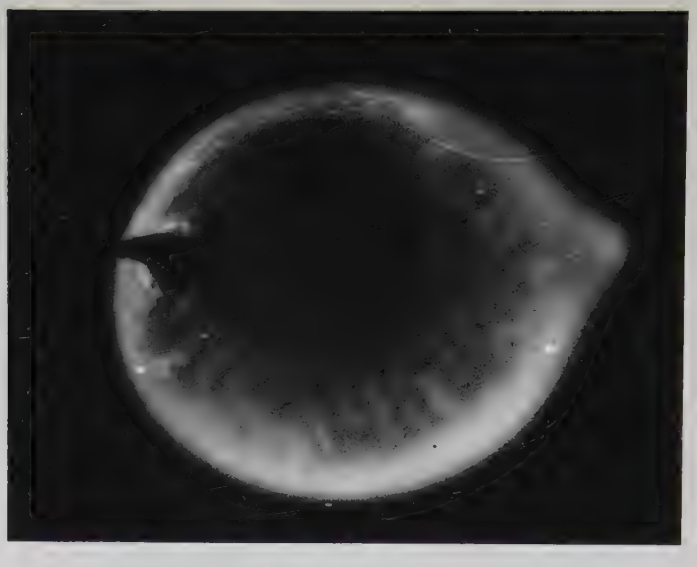
Figure 24 - Extrémité antérieure du mâle.

Figure 25 - Extrémité postérieure du mâle montrant les spicules et le cloaque.

Figure 26 - Femelles adultes d'Heterodera avenae

Figure 27 - Jeune femelle avec sa matrice.

Figure 28 : Aspect général du kyste de H. avenae



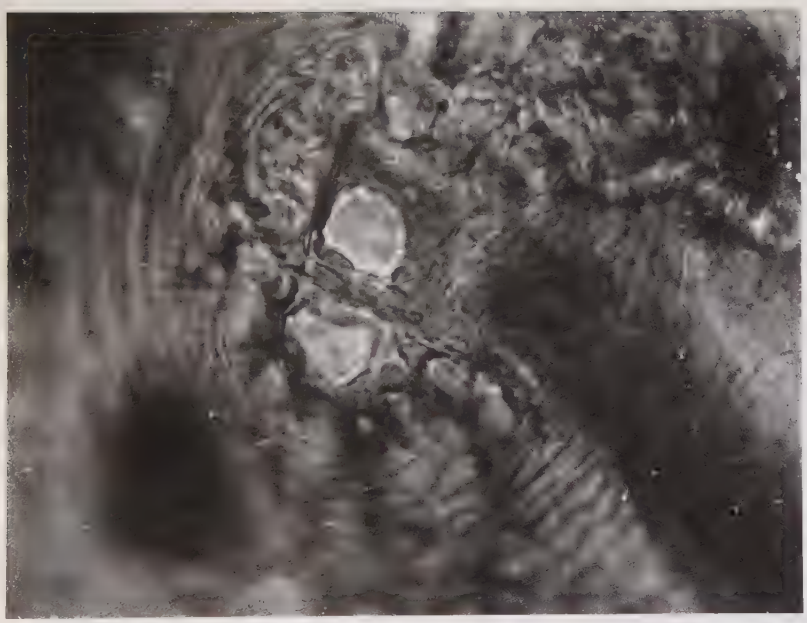


Figure 29 : Cône vulvaire vu de face (fenestralia)

Figure 30 : Détail de la partie périnéale montrant les fenêtres et la fente vulvaire

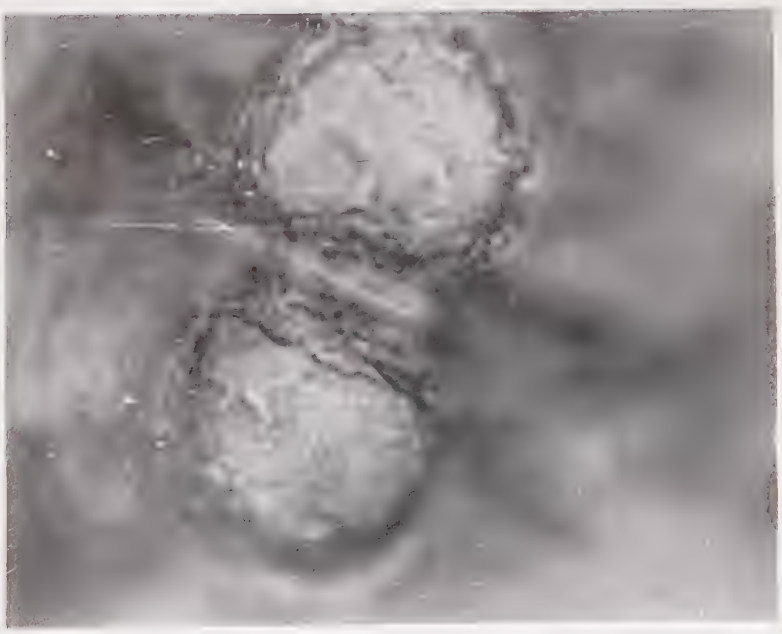


Figure 31 - Orenementation de la paroi du kyste.

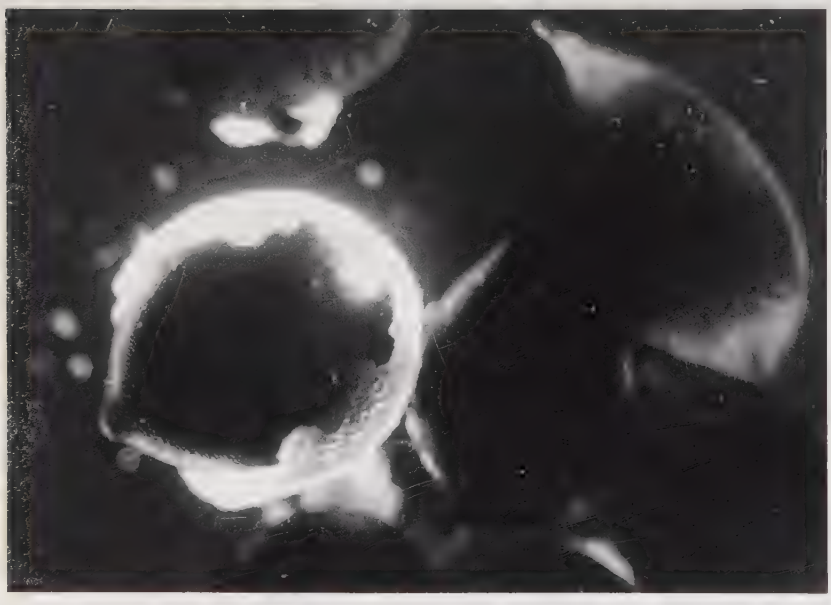


Figure 32 - Couche sub-cristalline (revêtement cireux).

Figure 35 - Formes aberrantes de kystes d'H. avenae.

DIAGRAMME DES CORRELATIONS ENTRE LE KYSTE, [illegible]

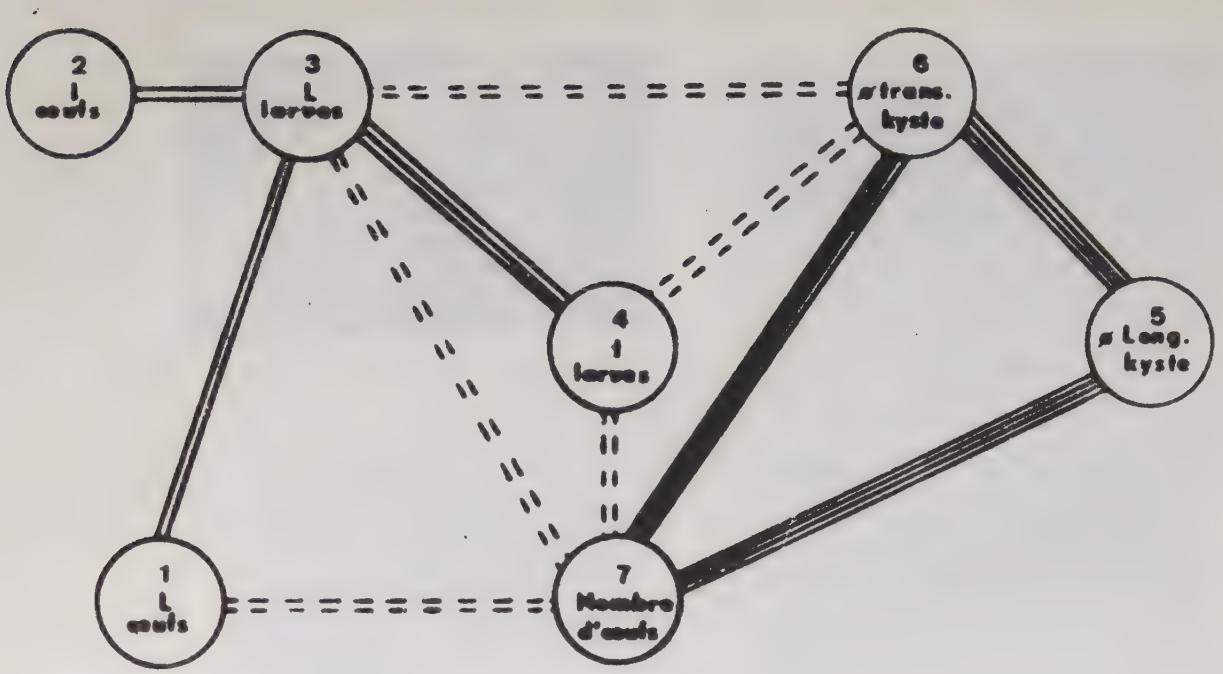


Figure 33

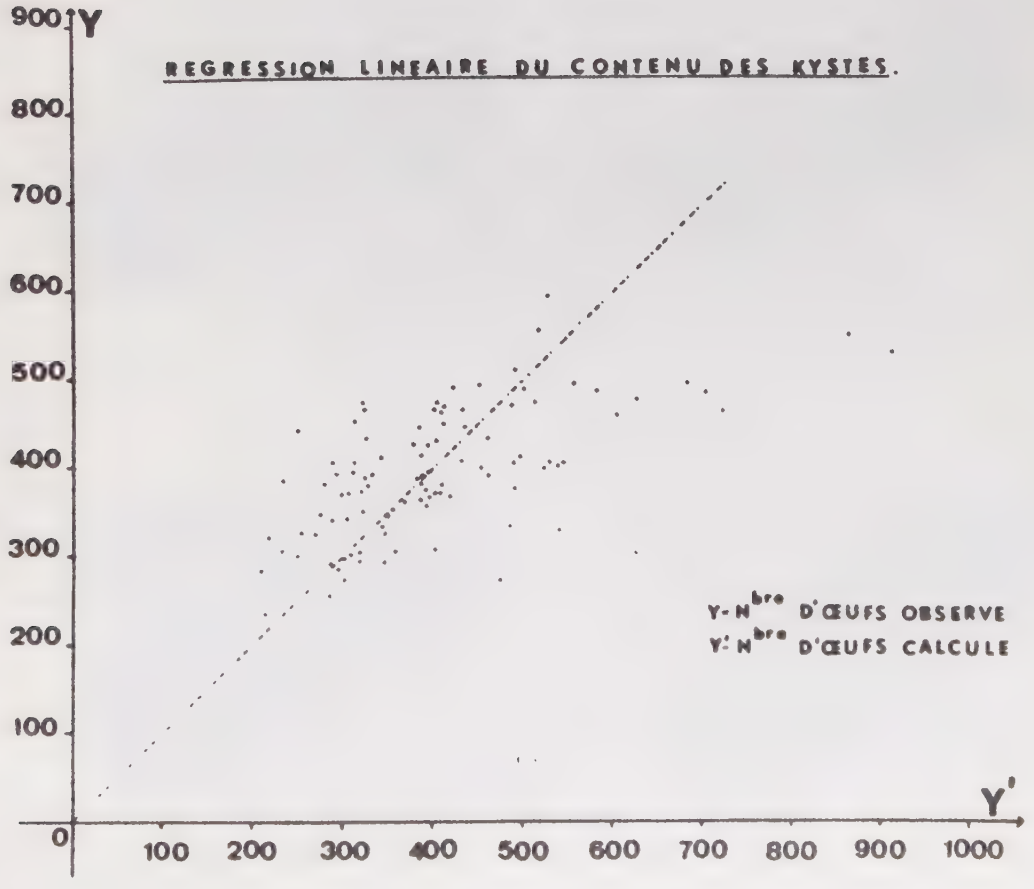


Figure 34

Figure 35 (voir page précédente)

Figure 36 - Oeuf dans l'oviducte

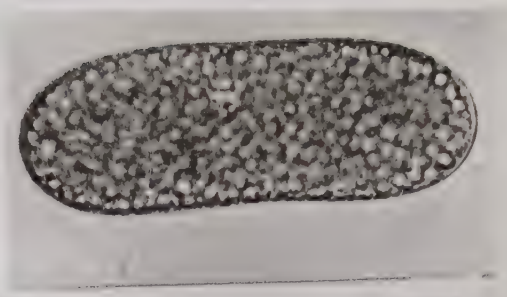


Figure 37 - Oeuf non encore évolué.

Figure 38 - Oeuf à 2 blastomères

Figure 39 - Oeuf à 3 blastomères.

Figure 40 - Oeuf à 4 blastomères.

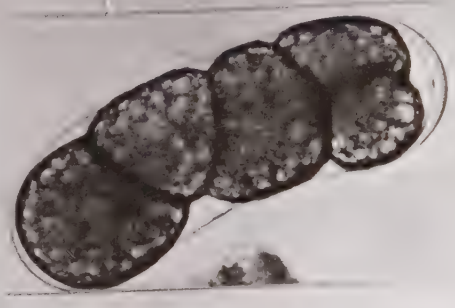


Figure 41 - Oeuf à 5 blastomères.

igure 42 - Oeuf à 6 blastomères

Figure 43 - Oeuf à [illegible] blastomères

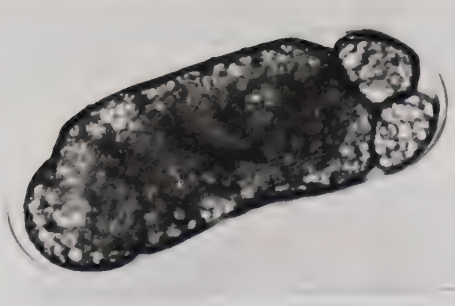


Figure 44 -

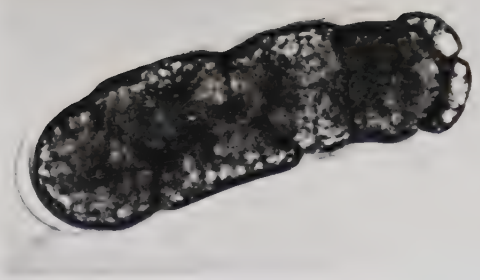


Figure 45 -

Stade avancé de la division montrant 2 cellules individualisées au pôle animal

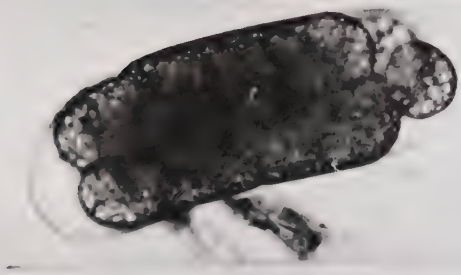


Figure 46 - Rotation d'une des cellules du pôle animal.

Figure 47 - Différenciation des blastomères.

Figure 48 - Phase de gastrulation.

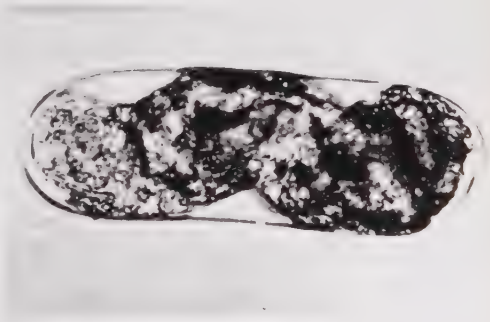


Figure 49 - Initiation de la p... active de l'embryon.

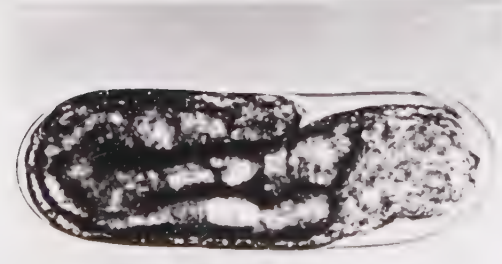


Figure 50 -

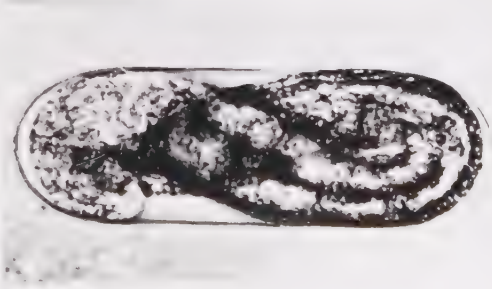


Figure 51 -

Croissance en longueur de l'embryon.

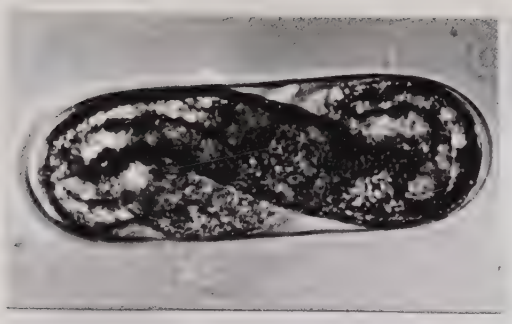


Figure 52 -

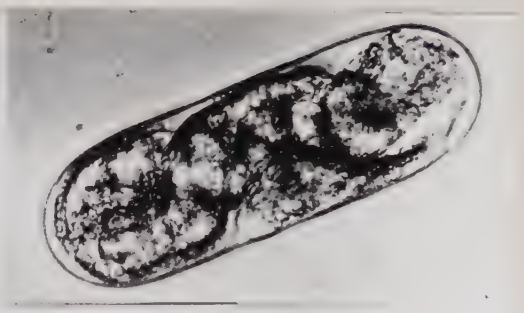


Figure 53 -

Croissance en longueur de l'embryon.

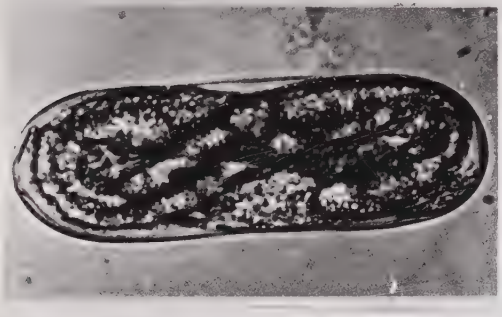


Figure 54 -

Figure 55 -
Larve de 1er stade dans l'oeuf.

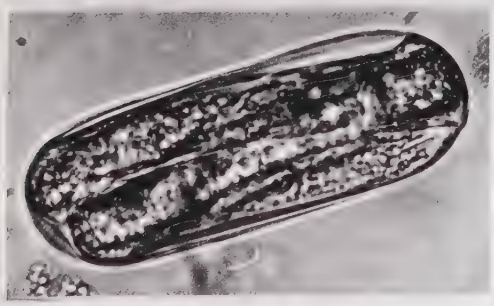


Figure 56 - Mue de la larve dans l'oeuf.

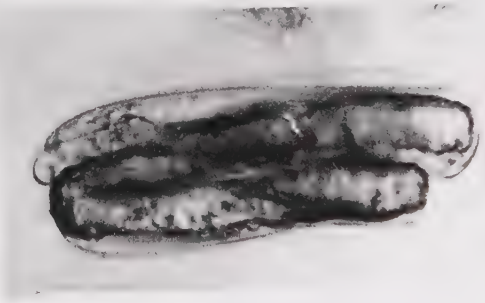


Figure 57 - Début du 2ème stade larvaire en position de repos (installation de la diapause).

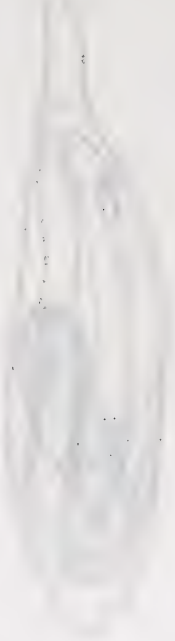


Figure 59 - Mâle préadulte piqué dans la racine.

Figure 60 - Mâle préadulte peu avant de se libérer.

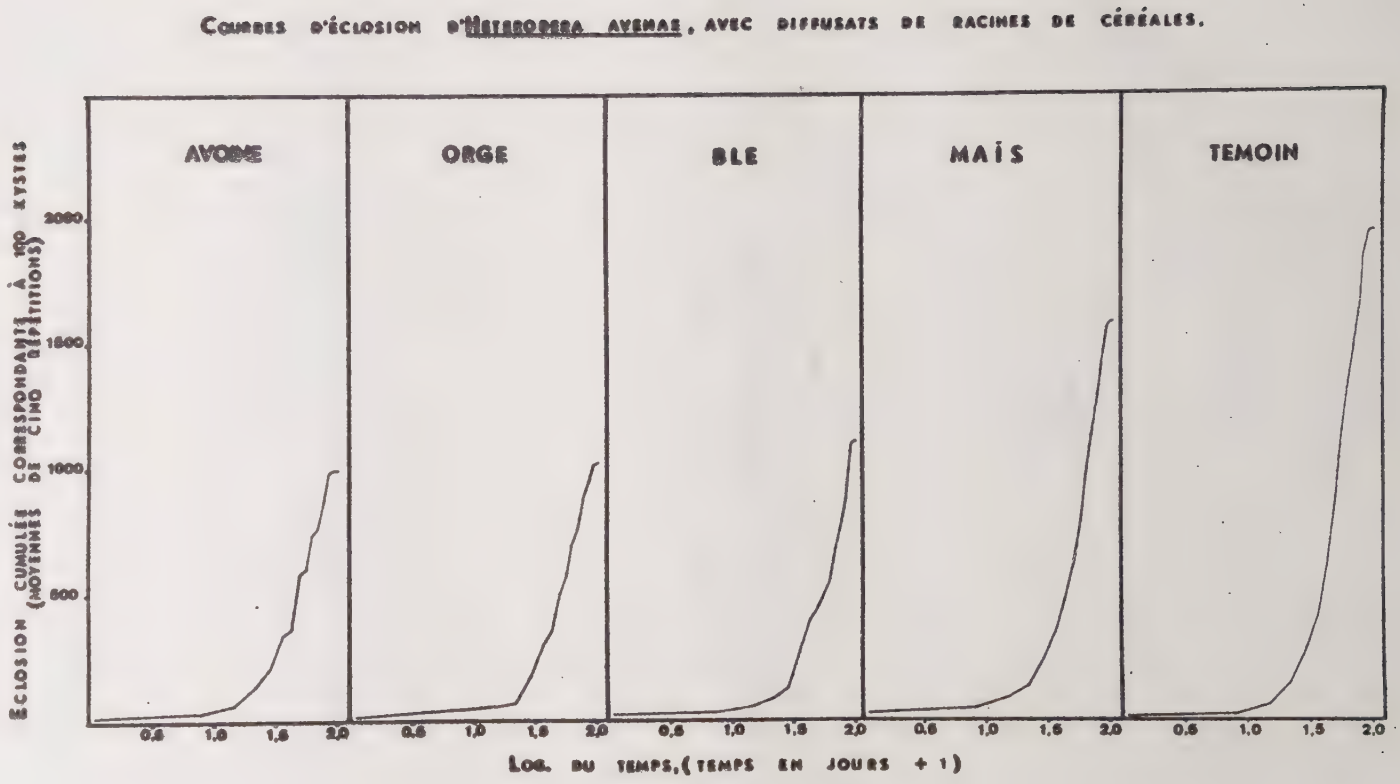

COURBES D'ÉCLOSION D'HETERODERA AVENAE, AVEC DIFFUSATS DE RACINES DE CÉRÉALES.
AVOINE
ORGE
BLE
MAÏS
TEMOIN
ÉCLOSION CUMULÉE CORRESPONDANTE À 100 KYSTES (MOYENNES DE CINQ RÉPÉTITIONS)
2000
1500
1000
500
0,5
1,0
1,5
2,0
LOG. DU TEMPS, (TEMPS EN JOURS + 1)

Figure 61

COURBES D'ÉCLOSION D'*HETERODERA AVENAE*, SOUMIS À DIFFERENTES TEMPÉRATURES.

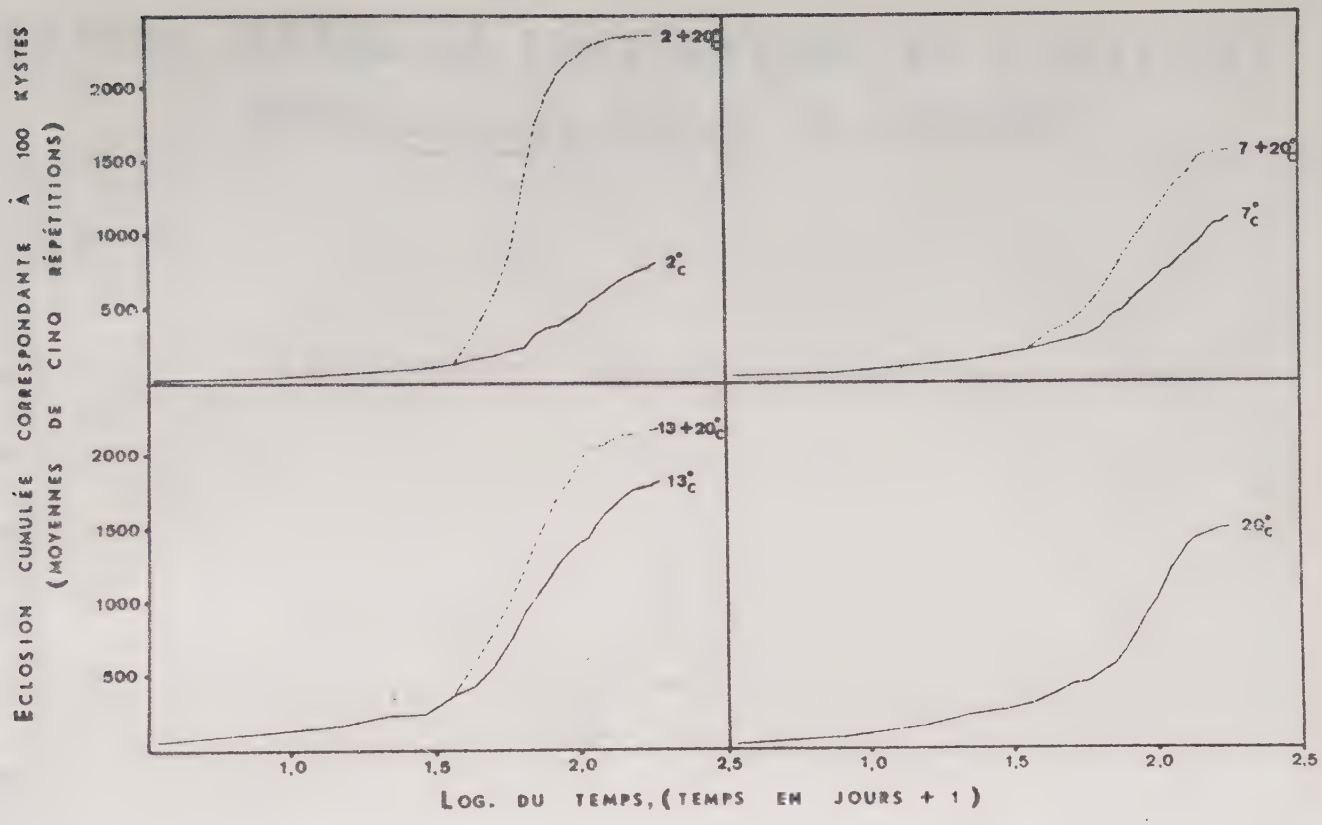


Figure 62

COURBES D'ECLOSION D'*HETERODERA AVENAE*, SOUMIS A DES TEMPERATURES VARIABLES.

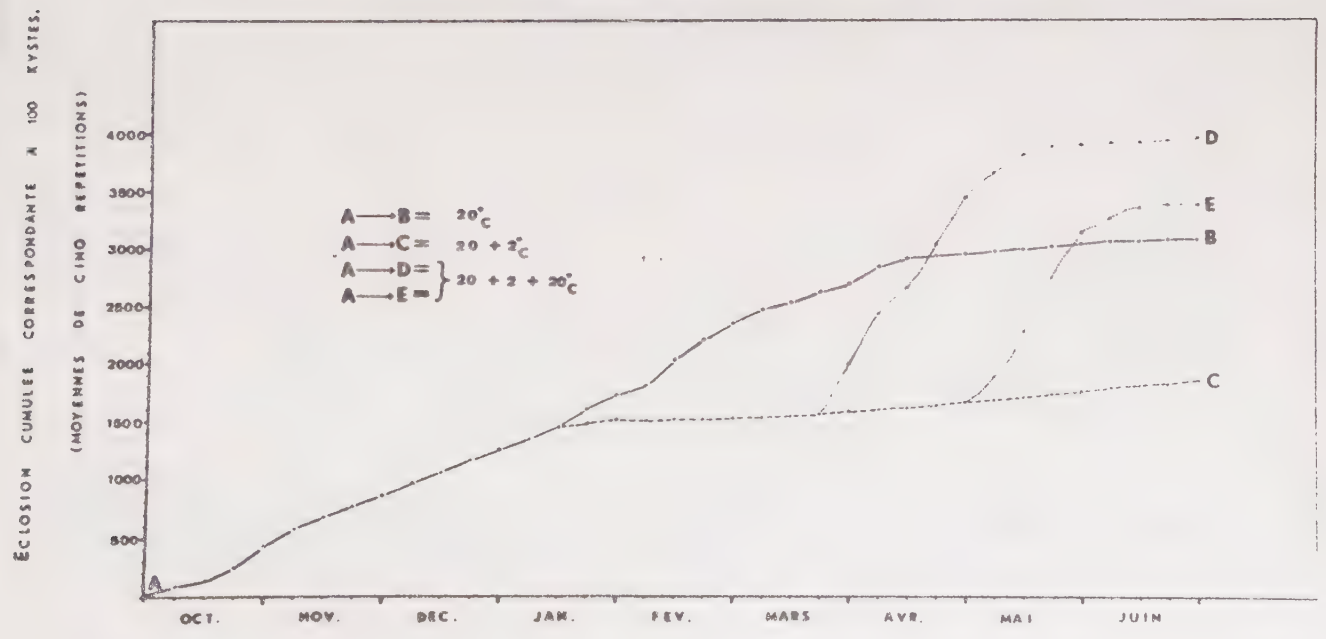
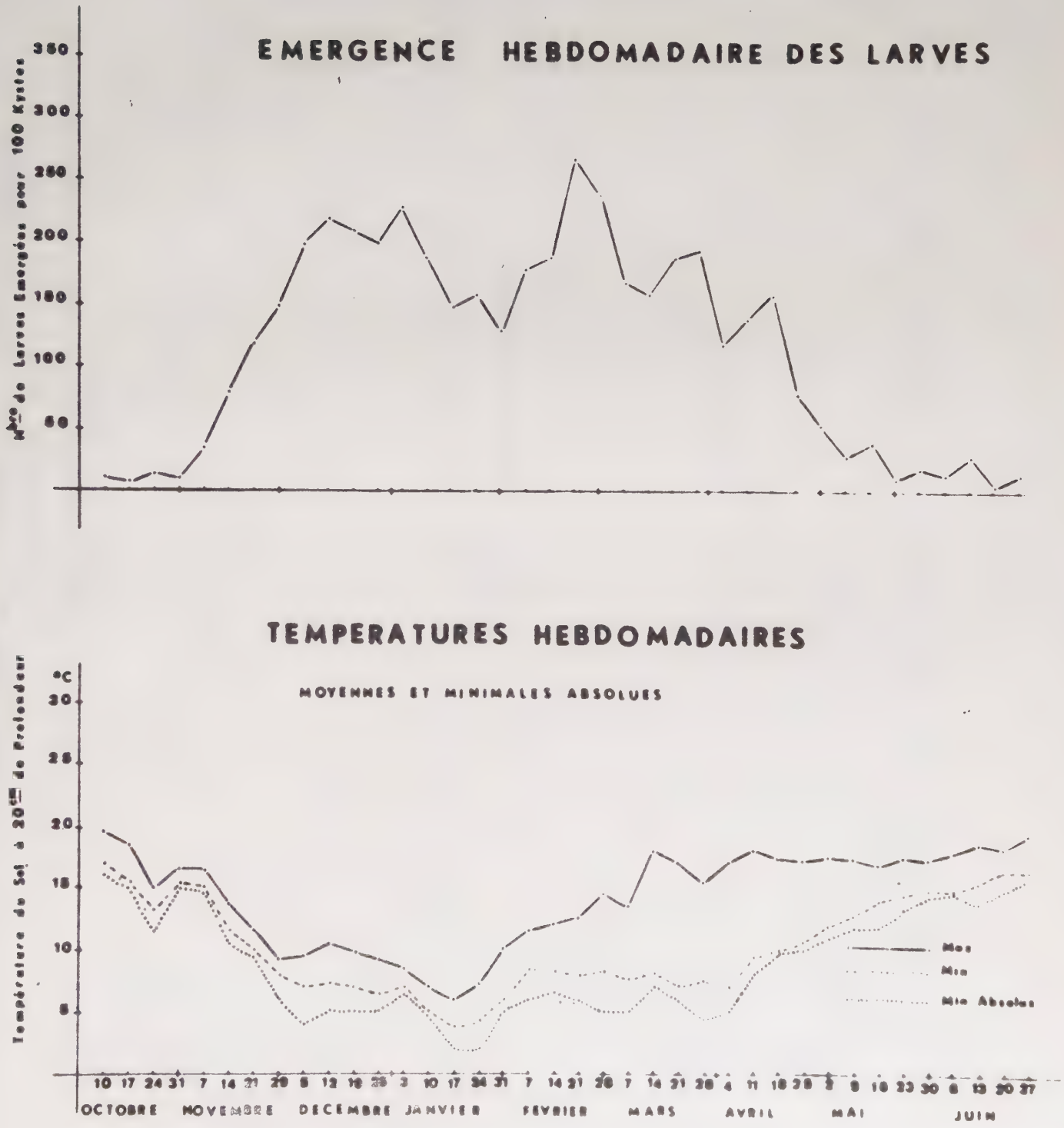


Figure 63

FIGURE 64

RELATION ENTRE LA TEMPERATURE ET L'ACTIVITE D'*HETERODERA AVENÆ* A ANTIBES



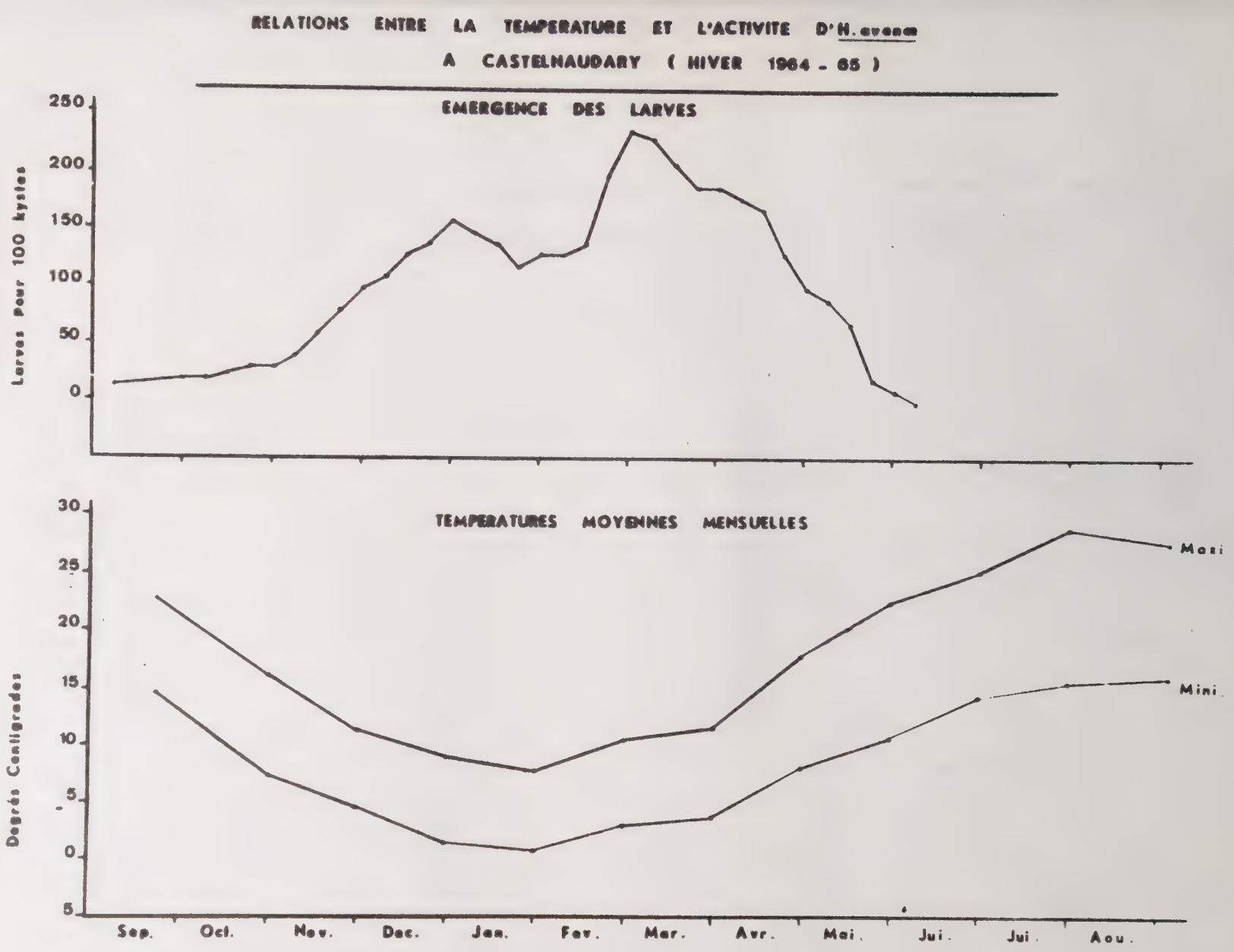

RELATIONS ENTRE LA TEMPERATURE ET L'ACTIVITE D'H. aegam
A CASTELNAUDARY (HIVER 1964 - 65)
EMERGENCE DES LARVES
Larves pour 100 kystes
250
200
150
100
50
0
TEMPERATURES MOYENNES MENSUELLES
Degrés Centigrades
30
25
20
15
10
5
0
5
Maxi
Mini
Sep.
Oct.
Nov.
Dec.
Jan.
Fev.
Mar.
Avr.
Mai.
Jui.
Jui.
Aou.

Figure 65

RELATIONS ENTRE LES CONDITIONS CLIMATIQUES

ET L'ACTIVITE D'*H.avenae* A CASTELNAUDARY (HIVER 1965 - 66)

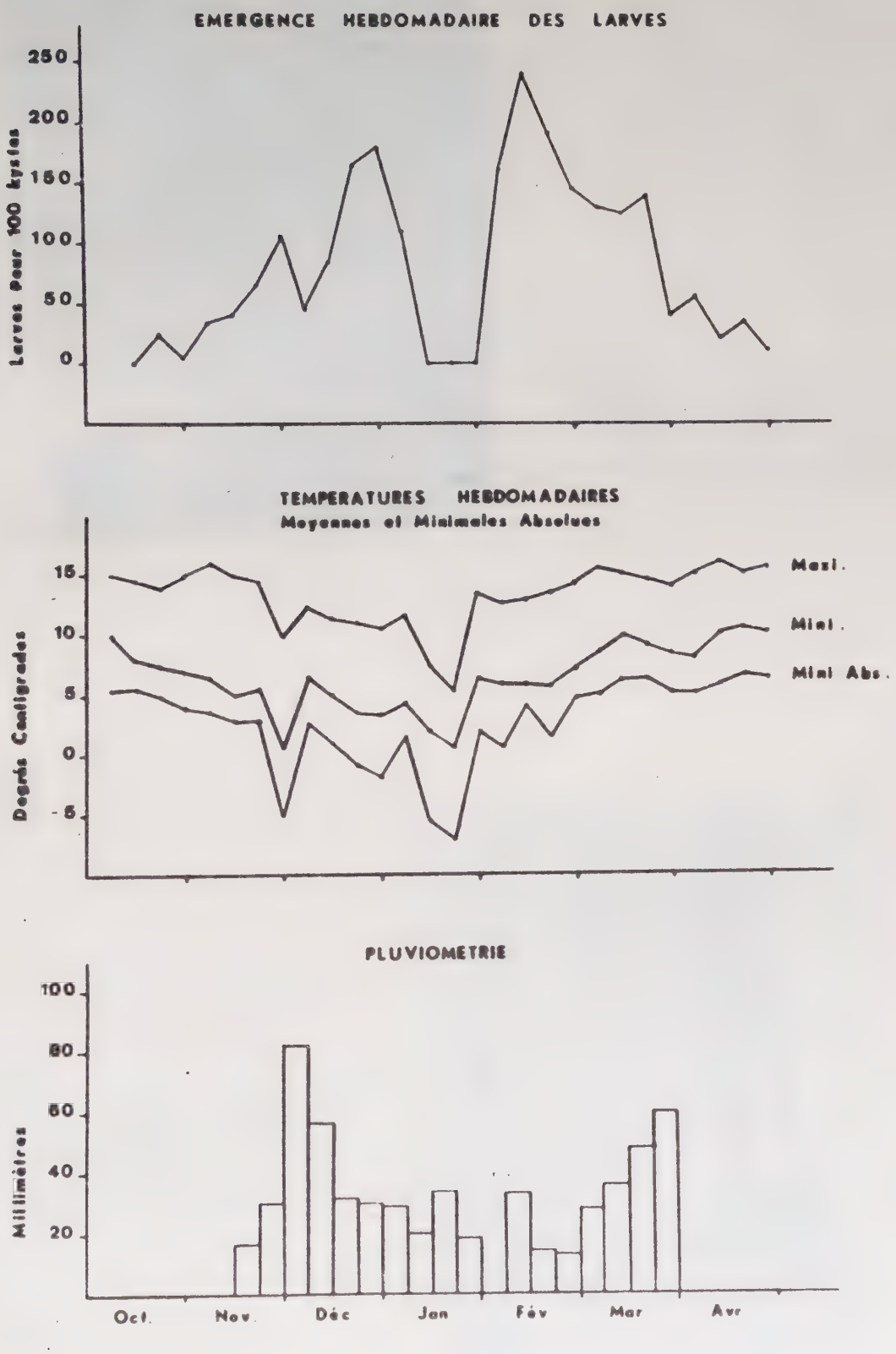


Figure 66

Figure 67 - Dégâts causés par Heterodera avenae sur blé.
à gauche : plantes infestées
à droite : plantes saines

Figure 68 - Dégâts causés par Heterodera avenae
à gauche : racines parasitées
à droite : racines saines

Figure 69

Un mois après l'infestation

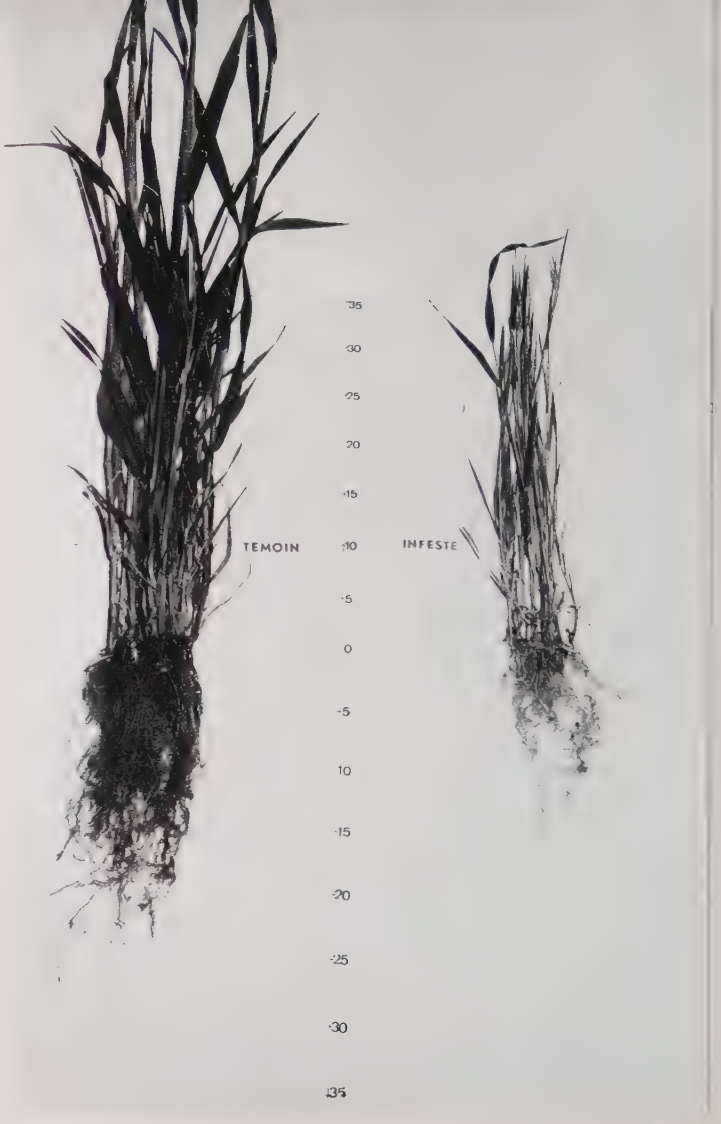


Figure 70

Quatre mois après l'infestation

Evolution de la maladie causée par Heterodera avenae sur blé.

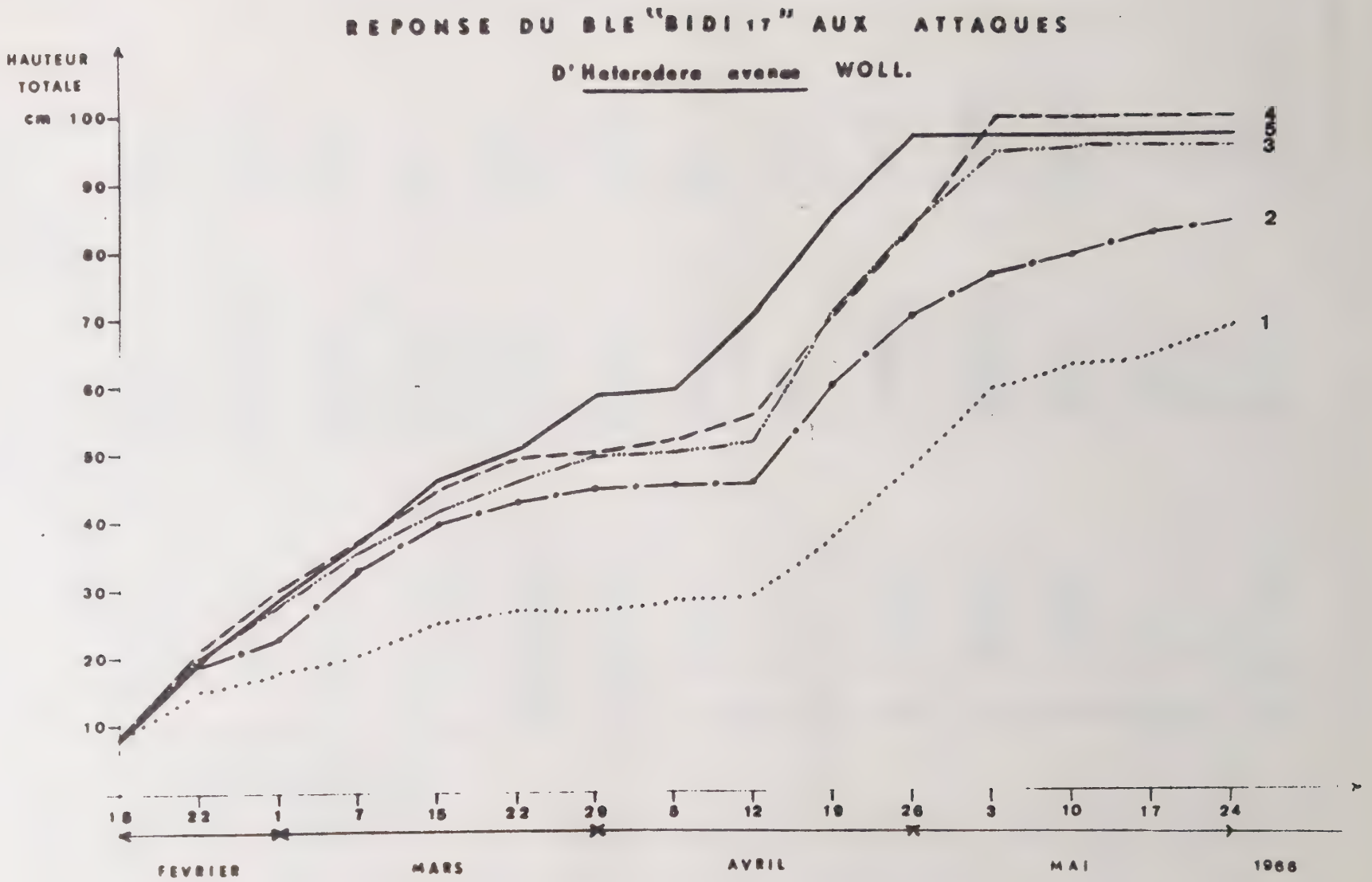
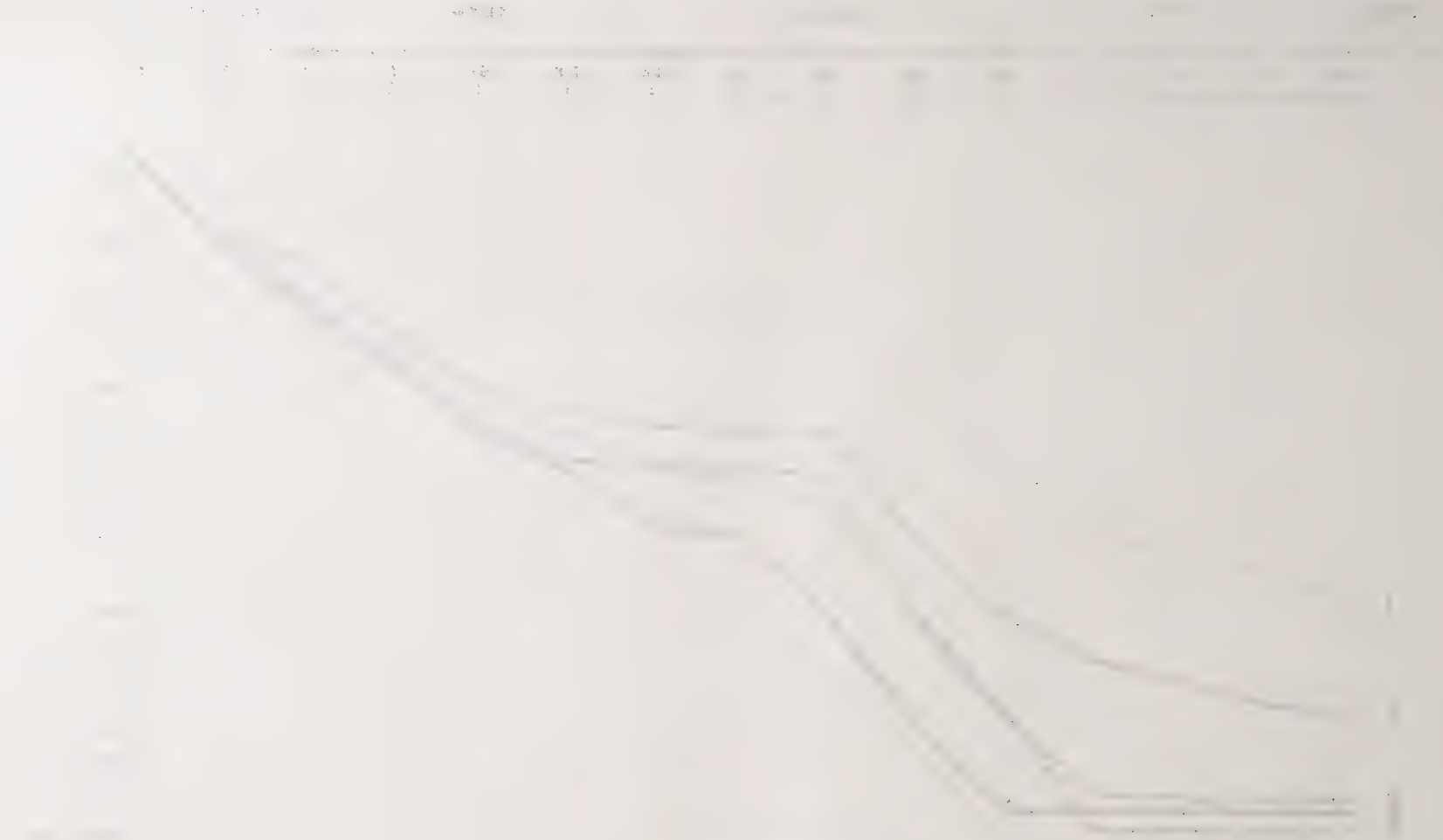

REPONSE DU BLE "BIDI 17" AUX ATTAQUES
D'Heterodera avenae WOLL.
HAUTEUR TOTALE
cm
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
3 et 4
2
1
18
22
1
7
15
22
29
5
12
19
26
3
10
17
24
FEVRIER
MARS
AVRIL
MAI
1966

Figure 71



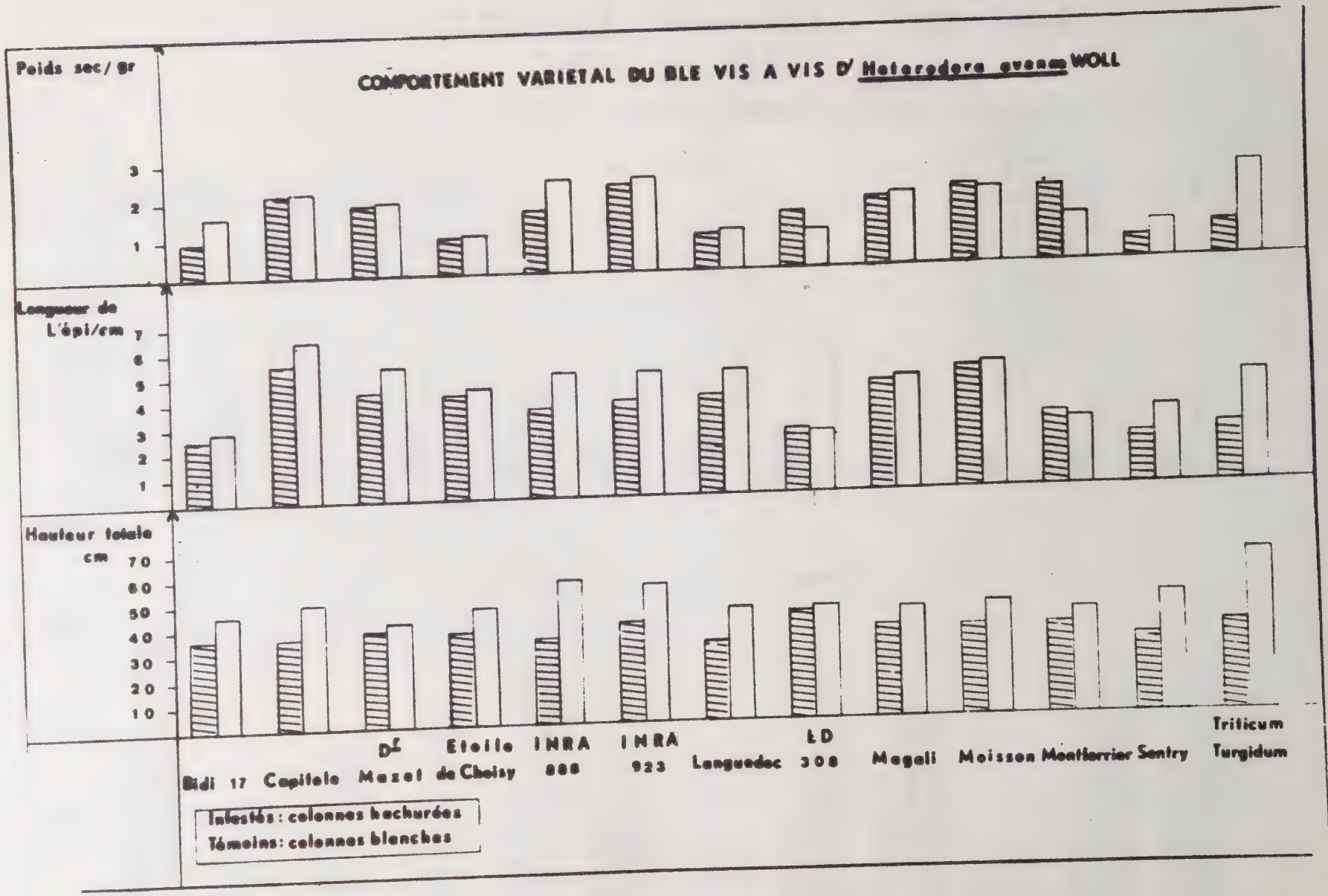
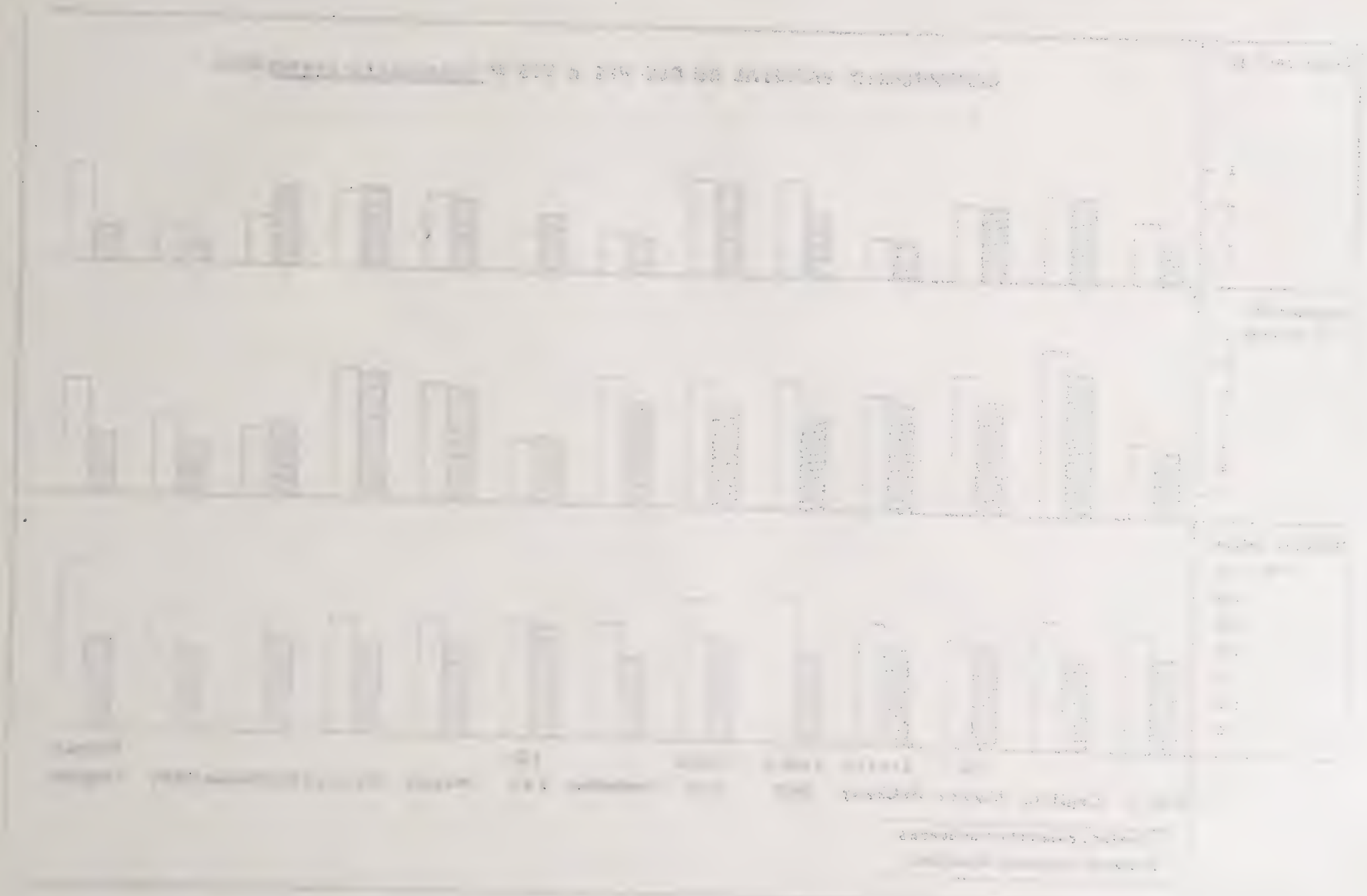

COMPORTEMENT VARIETAL DU BLE VIS A VIS D' Heterodera avenae WOLL
Poids sec/ Pr
3
2
1
Longueur de L'épi/cm
7
6
5
4
3
2
1
Hauteur totale cm
70
60
50
40
30
20
10
Bidi 17
Capitole
Mazet
D.L de Choisy
Etoile
INRA 888
INRA 923
Languedoc
LD 308
Megali
Moisson
Montferrier
Sentry
Triticum Turgidum
Infestés : colonnes hachurées
Témoins : colonnes blanches

Figure 75



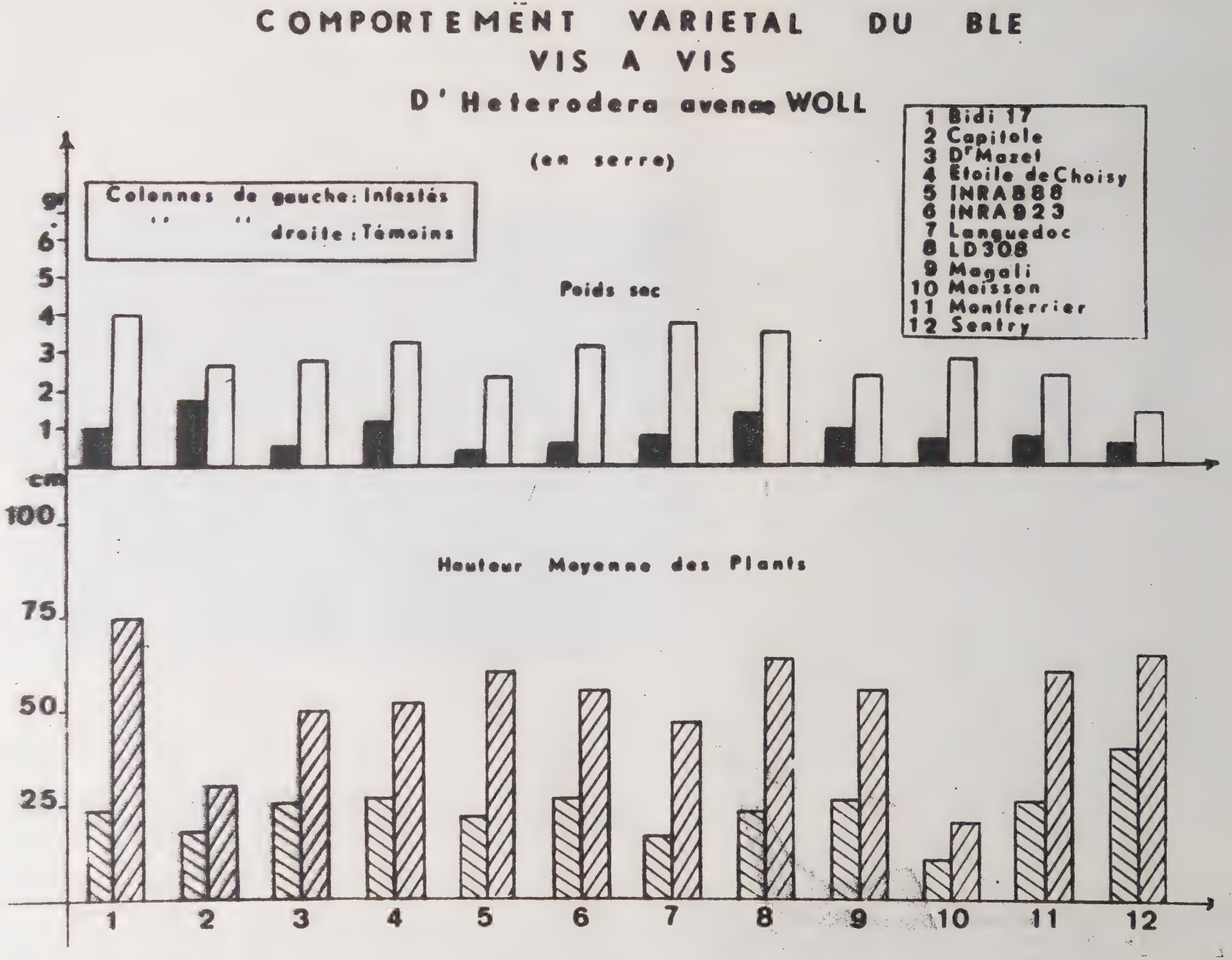

COMPORTEMENT VARIETAL DU BLE
VIS A VIS
D'Heterodera avenae WOLL
(en serre)
Colonnes de gauche: Infestés
" " droite: Témoins
1 Bidi 17
2 Capitole
3 Dr Mazet
4 Etoile de Choisy
5 INRA 888
6 INRA 923
7 Languedoc
8 LD 308
9 Magali
10 Moisson
11 Montferrier
12 Sentry
Poids sec
g
6
5
4
3
2
1
Hauteur Moyenne des Plants
cm
100
75
50
25
1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12

Figure 74

Figure 72 - Dégâts d'Heterodera avenae sur blé - de gauche à droite : degré d'infestation décroissant.

Figure 73 - Relation entre la longueur de l'épi et le degré d'infestation (A : fortement infesté
(T : non infesté

BIBLIOGRAPHIE

ABOUL-EID H.Z. and COOMANS A., I966 - Intersexuality in Longidorus macrosoma. Nematologica, I2, 343-344.

ANDERSEN S., I954 - Resistens mod havreal. Ugeskr. Landm, 99 (4), 43-45

" " , I956 - Collection of cysts of Heterodera major and estimation of the cyst content. Nematologica,I (4), 303-306

" " , I958 - Havreålens betydning og be kaempelse. Ugeskr. Landm., 42.

" " , I959 - Resistance of Barley to various populations of the Cereal Root Eelworm (Heterodera major). Nematologica, 4, 9I-98

" " , I96I - Resistens mod Havreål Heterodera avenae. Dansk Videnskabs Forlag. København I96I.(Dissertation) I80 pp.

" " , I963 - Resistance to cereal root eelvorm (Heterodera avenae WOLL.) Testing methods. Nematologica, 9 (4), 527-530.

" " , I964 a - Havreål og flydende ammoniak. Ugeskriff for Landmaend, I09, 47-50. (in Danish).

" " , I964 b - Opformering af havreål. Ugeskrift for Landmaend, I09, 559-56I. (in Danish).

" " , I965 - Heredity of Raee I or Raee 2 in Heterodera avenae. Nematologica,II, I2I-I24.

ANONYME, I953 - Report of the Minister for Agriculture. Dublin. Annual report I952-53 - 22 nd (I952-53), I95 pp. (See pp. 97, I57, (I6-I7). (Helminth. Abstr..22, 6, N° 90I a).

ANONYME, I955 - Survey of cereal root eelworm (Heterodera major) in England and Wales I954. Plant. Path. T. 4. 3, 98-I02,

ANSCOMBE F.J. , I950 - Soil sampling for potato-root eelworm cysts. A report presented to the conference of advisory entomologists. Ann. Appl. Biol., 37, 286-295.

BAKER A.D., I945 - Records of plant-parasitic nematodes in the Dominion of Canada. Canad. Ins. Pest Rev. 23, I40-I53.

BAKER A.D. and L.J. CHAPMAN,I946 - The oat nematode in Ontario. Processed Publication, Division of Entomology, Department of Agriculture, Canada, 29, 4 pp. (Helminthological Abstracts, I5, n°66)

.../...

BAUNACKE A., I922 - Untersuchungen zur Biologie und Bekämpfung des Rübennematodon Heterodera schachtii SCHMIDT. Arb. Biol. Reichsanst. Land und Forstw., II (3), I85-288.

BESSEY E.A., I9II - Root-Knot and its control. U.S. Dept. Agr. Bur. Pl. Ind. Bul. 2I7, I-89.

BIJLOO J.D., I954 - A new method for estimating the cyst contents of the potato-root eelworm Heterodera rostochiensis WOLLENWEBER. Journal of Helminthology 28, I23-I26.

BIRD A.F., I958 - The adult female cuticle and egg sac of the Genus Meloydogine GOELDI, I887. Nematologica 3, 205-2I2.

" " , I959 - Development of the root-knot nematodes Meloïdogyne javanica (TREUB) and Meloïdogyne hapla CHITWOOD in the tomato. Nematologica 4, 3I-42.

BUHR H.A., I954 - Untersuchungen über den Kartoffel-nematoden. I. Die "Papierstreifenmethode" ein vereinfachtes Verfahren zur Untersuchung von Bodenproben auf ihren Besatz mit Nematodenzysten. Nachr. Bl. Dtsch. Pfl Sch. Dienst, Berlin 8, 45-48.

BYARS L.P., I9I4 - Preliminary notes on the cultivation of the plant parasitic nematode, Heterodera radicicola. Phytophatology 4 (4), 323-326.

CALAM C.T., RAISTRICK H. and TODD A.R., I949 - The Potato eelworm hatching factor. I. The preparation of concentrates of the hatching factor and a method of bioassay. Bioch. Jour. 45 (5), 5I3-5I9.

CALAM C.T., TODD A.R. and WARING W.S., I949 - The potato eelworm hatching factor. 2. Purification of the factor by alkaloid salt fractionation. Anhydrotetronic acid as an artificial hatching agent. Bioch. Jour. 45 (5), 520-524.

CAMERON A.E., I946 - Insect and other pests of I945. Trans. Highl. Agric. Soc. Scotland (Helminth. Abstr. I5, N° 254 a), Ser. 5 (58), I0I-I20.

CARE M., I959 - Contribution à l'étude des substances excrétées par les racines des végétaux supérieurs. Thèse Doc. Pharma., Lille, Imprimerie Centrale, 94 pp.

CARROL J., I939 - The incidence of eelvorm pests in Eire. Agric. Progr., I6 (2) 207-2II (Helminth. Abstr., 8, 4, N° 260 a).

CARROL K.K., I958 - Purification and properties of eelworm hatching factor. Hatching factors for the cabbage, hop and beet root eelworms (Heterodera cruciferae, H. humuli and H. schachtii respectively). Nematologica 3, I97 -204.

CARROL K.K., HEYES J.K., JOHNSON A.W. and TODD A.R., I958 - The potato eelworm hatching factor. 7. Further methods for concentration of the factor. Nematologica 3, I54-I67.

.../...

CAYROL J.C., I964 - Etudes preliminaires sur le cycle évolutif de Ditylenchus myceliophagus GOODEY. Nematologica IO, 36I-368

CHAPMAN L.J., I938 - Oat nematodes on winter wheat. Scientific Agriculture,I8, (9) : 527-528 (Helminthological abstr., 7, N° 666a)

CHATIN J., I887 - Sur les kystes bruns de l'anguillule de la betterave. C.R. Acad. Sci., Paris, I05, I30-I32.

CHATIN J., I888 - Sur la structure des téguments de l'Heterodera schachtii et sur les modifications qu'ils présentent chez les femelles fécondées. C.R. I888, II p. I39-I4I (Abstr. in J.R. Micr. Soc.,I888, p.738)

" " , I89I - L'Anguillule de la betterave (Heterodera schachtii). Min. Agric. (France) Bull. Ann.,IO, 457-506.

CHITWOOD B.G. and BUHRER E.M., I946 - The life history of the golden nematode of potatoes, Heterodera rostochiensis WOLLENWEBER, under Long Island, New York conditions. Phytopathology,36, I80-I89.

CHITWOOD B.G. and J. FELDMESSER, I948 - Golden nematode population studies. Proc. Helm. Soc. Wash., I5 (2), 43-55.

CHRISTIE J.R., I959 - The Cyst Nematodes. In: Plant Nematodes. Their Bionomics and control. Agric. Exp. Sta. University of Florida. pp. 80-95

CHRISTIE J.R. and G.S. COBB, I94I - Notes on the life history of the root-Knot nematode, Heterodera marioni. Proc. Helm. Soc. Wash., 8, 23-26.

CLARKE A.J. and A.M. SHEPHERD, I964 - Synthetic hatching agents for Heterodera schachtii SCHM. and their mode of action. Nematologica, IO, 43I-453.

CLARKE A.J. and A.M. SHEPHERD, I966 - Picrolonic acid as a hatching agent for the potato cyst nematode, Heterodera rostochiensis WOLL. Nanure, London, 2II, 546.

COLE C.S. and HOWARD H.W., I958 - Observations on giant cells in potato roots infected with Heterodera rostochiensis. Jour. Helminth., 32 (3), I35-I44.

COLLINGWOOD C.A., I962 - Continuous corn growing and cereal root eelworm in the South West. Nat. Agr. Ad. Serv. (South-Western Region) Rev.58, 70-73.

COOPER B.A., I955 a - A preliminary Key to British species of Heterodera for use in soil examination. In: Soil Zoology. Edited by D.K. Mc E.KEVAN London, Butterworths., 269-280 .

" " , I955 b - A mechanical device for concentrating Heterodera cysts Nematoda). In: Soil Zoology. Edited by D.K. Mc E. KEVAN, London, Butterworths, 385-389.

" " , I955 c - Mounting technique for identification of Heterodera eelworm cysts. In: Soil Zoology. Edited by D.K. Mc E. KEVAN, London Butterworths, 4I9-420.

.../..

COPPOCK L.J. and A.L. WINFIELS, I959 - White cysts of cereal root eelworm on oat stubble. Plant Pathology,8 (I), pp. 38. (Helm. Abstr. 29 (I), 56, 249)

COTTEN J., I962 a - Effect of temperature on hatching in the cereal root eelworm (Heterodera avenae). Nature. London, I95 (4838), 308;

COTTEN J. Resistance in Barley and Oats to the Cereal Root Eelworm Heterodera avenae WOLLENWEBER. Nematologica,9 (I), 8I-84.

DALMASSO A., I966 - Méthode simple d'extraction des nématodes du sol. Revue d'Ecologie et Biologie du Sol (à paraître).

DAVIDSON J., I930 - Eelworm (Heterodera schachtii SCHM.) affecting cereals in South Australia. Jour. Dept. Agric. S. Austr., 34 (4), 378-385.

DAVIES T.G., I962 - Cereal root Eelworm in North Wales. Agriculture, London, 68, 555-557.

DAVIES T.G. and D.J. GRIFFITHS, I962 - Resistance of oats to cereal root eelworm (Heterodera avenae WOLL.). Ann. Appl. Biol., 50 (4), 687-69I.

DELANOUE P., I953 - L'Anguillulose des céréales, moyens susceptibles d'en limiter les dégâts en Tunisie. La Tunisie Agric. 23 Fév.I953.

DIETER A., I958 - Beobachtungen über Heterodera major O. SCHM. an Hafer. I. Mitteilung. Nachrichtenb. Deut. Pflanzenschutzd, Berlin, I2 (8); I55-I58. (Helminth. Abstr. 27, (5-6) n° 367.

" " , I960 - Beobachtungen über Heterodera major O. SCHM. an Hafer. Nachrichtenb Deut. Pflanzenshutzd. Berlin, I4 (3), 43-48.(Helminth. Abstr. 30 (2),n°883.)

DIJKEMA L.R., I947 - Eenige waarnemingen met betrekking tot eenzijdige graanbouw. Tijdschrift over Plantenziekten, 53 (I), I6-I8 - (English sumary p.I8) (Helmint. Abstr. I6, n° 50a).

DIXON G.M., I963 - The effect of spring nainfall on the host-parasite relationship between the cereal root eelworm (Heterodera avenae WOLL.) and the oat plant (Avena sativa L.). Nematologica, 9 (4), 52I-526.

DIXON G.M. and J.M. RYLAND, I964 - Morphometric relations in the Genus Heterodera. Nematologica,I0, I80-I8I.

DROPKIN V.H., I957 - A method for determination of the infectivity of Heterodera rostochiensis larvae. Nematologica,2 (I), 72-75.

DROPKIN V.H., G.C. MARTIN and JOHNSON R.W., I958 - Effect of osmotic concentration on hatching of some plant parasitic nematodes. Nematologica, 3, II5-I26.

DUDDINGTON C.L. and C.M.G. DUTHOIT, I960 - Green manuring and cereal root eelworm. Plant Pathology, 9 (I), 7-9. (Helminth. Abstr.30, 2,N°885)

.../...

DUDDINGTON C.L., C.O.R. EVERARD and M.G. DUTHOIT, I96I - Effect of green manuring and a predaceous fungus on cereal root eelworm in oats. P ant Pathology. London, IO, (3), I08-I09. (Helminth. Abstr. 3I (4, n°2708).

DUGGAN J.J., I958 - Population studies on cereal root eelworm Heterodera major (O. SCHMIDT, I930). Econ. Proc. R. Dublin Soc. 4 (6), I03-II8.

" " , I959 - Host range of cereal root eelworm (Heterodera major O. SCHMIDT I930) Agric. Proc. Dublin, I3, I3-I5 and I7, I9-2I. (Helminth Abstr. 34 N° I46).

" " , I960 - Effect of soil drying on the viability of Heterodera major cysts. Nature, London, I85, 554-555.

" " , I96I a - The effect of cereal root eelworm (Heterodera major O. SCHMIDT) on its hosts. Irish J. Agric. Sci. I(I), 9-I6.

" " , I96I b - Seasonal variations in the activity of cereal root eelworm (Heterodera major, O. SCHMIDT, I930) Sci. Proc. R. Dublin, Soc. Série B Vol I (3), 2I-24. (Helminth. Abstr. 3I, 20I).

" " , I963 - Relationship between intensity of cereal root eelworm (Heterodera avenae WOLLENWEBER, I924) infestation and pH value of soil. Irish Jour. of Agric. Res. 2 (I), I05-II0.

DUNN E., I957 - Cereal root eelworm. Scottish Agr., 36; I46-I48. (Plant Dis. Rep., Supp. 252, N°. 258)

" " , I962 - Pre-conditioning of the cyst contents of potato-root eelworm, Heterodera rostochiensis WOLL;, by temperature and its effect on the subsequent emergence of the larvae in water and root diffusate. Nematologica 7, I77-I85.

DUNN E. and W.A. HUGUES, I964 - Interrelationship of the potato root eelworm, Heterodera rostochiensis WOLL., Rhizoctonia solani KÜHN and Colleto-trichum atramentarium (B. and Br.) Toub., on the growth of the tomato plant. Nature. London, 20I, 4I3-4I4.

DUTHOIT C.M.G., I964 - Cereal root eelworm in the West Midlands. Plant Pathol. I3 (I), 25-3I.

DUTHOIT C.M.G. and H.C.F. NEWTON, I953 - Cereal root eelworm on grasses in the West Midlands. Plant Pathology 2 (2), p. 72.

EDWARDS E.E., I935 - On Heterodera schachtii, with special reference to the oat race in Britain. Jour. Helminth. I3 (2), I29-I38. (Helminth. Abstr. 4, n° I27 g).

" " , I938 - Investigations upon the control of oat sickness by the addition of certain chemical substances to soil infected with Heterodera schachtii SCHMIDT. Ann. Appl. Biol. 25 (4), 855-866 (Helminth. Abstr. 7, N° 289 a)

.../...

ELSEA J.R., I95I - The histological anatomy of the nematode Meloïdogyne hapla (Heterodoridae). Proc. Helminth. Soc. Washinton, I8 (I), 53-63.

ELLENBY C., I945 - The influence of crucifers and mustard oil on the emergence of larvae of the potato-root eelworm, Heterodera rostochiensis WOLLENWEBER. Ann. Appl. Biol., 32, 67-70.

" " , I946 a - The influence of potato variety on the cyst of the potato-root eelworm Heterodera rostochiensis WOLLENWEBER. Ann. Appl. Biol., 33, 433-446.

" " , I946 b - Nature of the Cyst Wall of the potato-root eelworm Heterodera rostochiensis WOLLENWEBER, and its permeability to water. Nature, London, I57, 302-303.

" " , I946 c - Ecology of the eelworm cyst. Nature, London, I57, 45I

" " , I953 - The hardening of the cyst wall of the potato root eelworm. Proceeding XIV International Congress of Zoology, Copenhagen I953. Copenhagen.

" " , I954 - Environmental determination of the sex ratio of a plant parasitie nematode. Nature, London, I74, IOI6.

" ", I957 - An investigation into the possibility of parthenogenesis in the potato-root eelworm, (Heterodera rostochiensis WOLLENWEBER).

FASSULIOTIS G., I957 - Role of the male in reproduction of the golden nematode. Phytopathology, 47, (I), II.

FENWICK D.W., I940 - "Methods for the Recovery and Counting of cysts of Heterodera schachtii from soil. Journal of Helminthology, I8 (4),I55-I72

" " , I942 - The Degree of Heterodera infectivity of soil and its determination. Journal of Helminthology, 20 (I-2), 50-66

" " , I943 - Note on the use of picric acid as a hatching agent. Jour. Helminth. 2I, 4I-42.

" " , I949 - Investigations on the emergence of larvae from cysts of the potato-root eelworm, Heterodera rostochiensis. I. Technique and variability. Journal of Helminthology, 23, I57-I70.

" " , I950 a - Investigations on theemergence of larvae from cysts of the potato-root eelworm, Heterodera rostochiensis. II. The form of the hatching curve. Jour. Helminth. 24 (I-2), 75-86.

" " , I950 b - Investigations on the emergence of larvae from cysts of the potato-root eelworm, Heterodera rostochiensis. III. Larval emergence in soil under the influence of potato-root diffusate. Jour. Helminth. 24, 86- 90.

.../...

FENWICK D.W., I95I a - "A new Modification of the Mc Master slide for Use in Potato-root Eelworm investigations. Jour. of Helminthology, 25 (3-4), I73-I76

" " , I95I b - Investigations on the emergence of larvae from the cysts of the potato-root eelworm, Heterodera rostochiensis. IV - Physical conditions and their influence on larval emergence in the laboratory. Jour. Helminth. 25, 37-48.

FENWICK D.W., I95I c - Investigations on the emergence of larvae from cysts of the potato-root eelworm, Heterodera rostochiensis. V. A shortened method for the conduct of hatching tests. Jour. Helminth., 25, 49-56.

" " , I952 a - The estimation of cyst contents of the potato-root eelworm, Heterodera rostochiensis. Jour. Helminth., 26, 55-68.

" " , I952 b - The bio-assay of potato-root diffusate. Ann. Appl. Biol. 39 (4), 457-467.

" " , I956 - The production of sterile viable larvae of the potato-root eelworm, Heterodera rostochiensis. Nematologica, I, 33I-336.

FENWICK D.W.,and M.T. FRANKLIN, I942 - Identification of Heterodera species by by larval length variations within a given species. Jour. Helminth. 20, 67-II4.

FENWICK D.W. and M.T. FRANKLIN, I95I - Further studies on the identification of Heterodera species by the larval length. Stimation of the length parameters for eight species and varieties. Jour. Helminth. 25, 57-76.

FENWICK D.W. and B. WIDDOWSON , I958 - The conduct of hatching tests on cysts of the potato-root eelworm Heterodera rostochiensis (WOLL.). Jour. Helminth. 32 (3), I25-I34.

FENWICK D.W. and WIDDOWSON E., I959 - The emergence of larvae from free eggs of the potato-root eelworm Heterodera rostochiensis (WOLL.). Ann. Appl. Biol., 47, I40-I49.

FERRARI T.J., I960 - Waarnemingen over de invloed van stikstofbemesting op schade door het havercystenaaltje. Landbouwvoorlichting I7 (5), 240-245 (Helminth. Abstr. 30, n° I664).

FERRIS V.R., I956 - Electron microscopy of golden nematode eyst wall. Phytopathology, 46, p.I2

FERRIS V.R. and B.M. SIEGEL, I957 - Electron microscopy of golden nematode cyst wall. Nematologica 2 (I957), I6-I8.

FIDDIAN W.E.H. and D.S. KIMBER, I964 - "A study of biotypes of the cereal cyst-nematode (Heterodera avenae WOLL), in England and Wales. Nematologica IO (4), 63I-636.

FIDLER J.H. and W.J. BEVAN, I963 - Some soil factors influencing the density of cereal root eelworm (Heterodera avenae WOLL.) populations and their damage to the oat crop. Nematologica, 9, 4I2-420.

.../...

FIDLER J.H., B.M. CHURCH and J.F. SOUTHEY, I959 - Field sampling and laboratory examination of cereal root eelworm cysts. Plant Path. 8, (I), 27-34.

FILIPJEV I.N., I934 -(Nematodes harmful and beneficial to agriculture). Moscow & Leningrad : Ogiz, Zelkhozgiz; 440 pp. (In Russian) (Helminth. Abstr., 3, n° 442).

FILIPJEV I.N. and STEKHOVEN J.H.S., I94I - A manual of agricultural helminthology E.J. Brill, Leiden, Holland. 878 pp.

FRANKLIN M.T., I938 - On the occurrence of Heterodera cysts in various soils and on the roots of Agrostis stolonifera L. Jour. Helminth. I6 (I), 5-I6.

" " , I939 - On the structure of the cyst wall of Heterodera schachtii SCHMIDT. Jour. Helminth. I7, I27-I34.

" " , I940 a - On the identification of strains of Heterodera schachtii Jour. Helminth., I8 (2-3), 63-84.

" " , I940 b - On the specific status of the so-called biological strains of Heterodera schachtii SCHMIDT. Jour. Helminth., I8 (4), I93-208.

" " , I95I - The cyst-forming species of Heterodera. Comm. Agric. Bur., England. I47 pp.

" " , I957 - Note on the nomenclature of the cereal root eelworm. Nematologica 2, I49-I5I.

FRANKLIN M.T., E. THORNE and M. OOSTENBRINK, I959 - Proposal to stabilise the scientific name of the cereal-root eelworm (class Nematoda). Bull. Zool. Nomencl., I7 (3-5), 76-85.

FUCHS O., I9II - Beiträge zur Biologie des Rübennematoden Heterodera schachtii. Ztschr. landw. Vohsw. Oster. I4, 923-949. (W.L. 23488).

FUSHTEY S.G., I965 - The oat cyst nematode, Heterodera avenae WOLLENWEBER, on corn, Zea mays, in Ontario. Can. Plant Dis. Surv. 45 (4), I05-I06.

FUSHTEY S.G. and P.W. JOHNSON, I966 - The biology of the oat cyst nematode, Heterodera avenae in Canada. I. The effect of temperature on the hatchability of cysts and emergence of larvae. Nematologica I2, 3I3-320

GABRIEL C., I926 - Parthénogénèse chez les anguillules radicicoles. R.C. Soc. Biol. Paris, 95, 497-498.

GAIR R., Cereal Root Eelworm. In: Plant Nematology, Edit. by J.F. Southey Tech. Bull. N° 7 (second edition), Min. Agr. London, H.M.S.O.,I99-2II.

GAIR R.,PRICE T.S.A. and FIDDIAN W.E.H., I962 - "Cereal root eelworm (Heterodera avenae WOLL.) Spring barley varieties". Nematologica, 7, 267-272.

GANTHERET R.J., I959 - La culture des tissus végétaux. Masson et Cie. Editeurs, Paris. 863 pp.

.../...

GODFREY G.H., OLIVEIRA J.M. and GITTEL B.H., I933 - The duration of life of the root knot nematode, Heterodera radicicola, in soils subjected to drying. Soil Science 35 (3), I85-I95.

GOFFART H., I930 - Rassenstudien an Heterodera schachtii SCHM. I. Variations-statistische Untersuchungen and Rüben-, Hafer - und Kartoffelstämmen von Heterodera schachtii. II. Untersuchungen über das Verhalten von Rüber- Hafer- und Kartoffelstämmen von H. schachtii in parasitologischer Beziehung. Arb. Biol. Reichsanst., Berl., I8 (I), 83-I00.

" " ., I932 a - Untersuchungen am Hafer-nematoden Heterodera schachtii SCHM. unter besonderer Berücksichtigung der Schleswig-Holsteinischen Verhältnisse. I. III. Beitrag zu : Rassenstudien an Heterodera schachtii SCHM. Arb. Biol. Reisch.; Berlin, 20 (I), I-26. (Helminth. Abstr., I, N° I84 a).

"" " ., I932 b- Rübennematoden und verwandte Formen : Hafer - und Kartoffelnematoden. Flugbl. Biol. Reich. Berlin II, 4th edit., 4pp. (Helminth. Abstr. I, n° 208 a).

" " , I933 - Praktische Ergebnisse der neueren Forschungen über den Rüben- und Hafernematoden. Mitt. Deutch. Landw. 48 (47), I029-I030. (Helminth. Abstr. 2, n° 407 a).

" " , I934 - Über die Biologie und Bekämpfung des Kartoffelnematoden (Heterodera schachtii SCHMIDT). Arbeiten Biol. Reich. für Land-und Forstwirkschaft 22, 73-I08.

" " , I939 - Zur Lebensgeschichte von Heterodera schachtii major (Nematodes) Zentralblatt für Bakteriologie. Abteilung II, 99 (I8-23), 394-399.

" " , I94I - Untersuchungen am Hafernematoden (Heterodera schachtii, SCHM.) unter besanderer Berücksichtigung der schleswig-holsteinischen Verhältnisse II. Arb. biol. Reichsanst. Berl. 23 (2), I4I-I6I. (Helminth Abstr. 28 n° 906 a).

" " , I949 - Rüben-,Hafer-und Kartoffelnematoden. Biol. Zeut. Brau. F.2(I) I-8.

" " , I960 a - Phytonematologie in Deutschland. In:Hackfruchtkrankheiten und Nematoden forschung. Mitt. Biol. Bund. Land-und Forst. Berlin, 99, I4-24.

" " , I960 b - Die taxonomische Bewertung morphologisch-anatomischer Merkmale dei den Zysten der Gattung Heterodera (Nematoda). In : Hackfruchtkrankheiten und Nematodenforshung. Mitt. Biol. Bund. Land-und Forst. Berlin, 99, 24-5I.

" " , I960 c - Die Kutikularstruktur des Hinterendes bei der Gattung Heterodera als Artcharakteristikum. Verch. Dtsch. Zool. Ges. Suppl. Zool. Anz., 23, 387-393.

GOLDEN A.M., I958 - Influence of leaf diffusate of sugar-beet on emergence of larvae from cysts of the sugar-beet nematode (Heterodera schachtii). Plant. Dis. Reptr. 42, I88,I93.

.../...

GOODEY T., I930 - On the presence of fats in the intestinal wall of Nematodes. Jour. Helminth. 8 (2), 85-88.

" " , I933 - Plant parasitic nematodes and the diseases they cause. E.P. Dutton and Co., Inc. New York, 306 pp.

" " , I937 - Two methods of staining nematodes in plant tissues. Jour. Helminth. I5 (3), I37-I44.

GOODEY J.B., I957 - Laboratory Methods for Work with Plant and Soil Nematodes. Minis. Agric. Fish. and Food.; Tech. Bull. N° 2, I957, 47 pp.

" " , I959 - Data to be considered, observed and, where possible, reported upon when presenting descriptions of new species. Nematologica 4, 2II-2I6.

" " , I963 a - Soil and Freshwater Nematodes. By T. GOODEY and rewritten by J.B. GOODEY. London: Methuen and Co. L.T.D., 554 pp.

" " , I963 b - Laboratory Methods for work with Plant and Soil Nematodes. Tech. Bull. N° 2 - Min. Agri. London. HM.S.O. 72 pp.

GOODEY J.B., M.T. FRANKLIN and HOOPER D.J., I965 - T. GOODEY'S the Nematode parasites of plants catalogued under their hosts. Comm. Agric. Bur. London ; 2I4 pp.

HAGEMEYER J.W., I95I - A new stage in the life cycle of the golden nematode Heterodera rostochiensis WOLLENWEBER. Proc. Helminth. Soc. Wash. I8 (2), II2-II4.

HAGUE N.G. and HESLING J.J., I958 - Population studies on cyst-forming nematodes on the genus Heterodera. Proc. Linn. Soc. Lond. I69, 86-92.

HAKANSSON I. and VIDEGARD G., I965 - Resistance studies on cereal root eelworm. I. Test methode considering the physical properties of the soil. Nematologica, II (4), 60I-608.

HAMS A.F. and WILKIN G.D., I96I - Observations on the use of predacious fungi for the control of Heterodera spp. Ann. Appl. Biol. 49,(3), 5I5-523.

HECHLER H.C. and TAYLOR D.P., I966 - The life histories of Seinura celeris, S. oliveirae, S. oxura, and S. steineri (Nematoda : Aphelenchoïdidae) Proc. Helminth. Soc. Wash. 33 (I), 7I-83.

HERIBERT-NILSSON N. Ekohavrens resistens mot nematoder. Weibulls ill. Arsbok. 22, I9 p.

HESLING J.J., I952 - An improved Method of separating Eelworm cyst from Debris. Journ. Helminth. 26 (2-3), 69-70.

" " , I956 - Some observations on Heterodera major. Nematologica I,56-63.

" " , I957 a - The hatching response of Heterodera major (O. SCHMIDT), to certain root diffusates. Nematologica, 2, I23-I25.

" " , I957 b - Heterodera major O. SCHMIDT, I930, on cereals- A population study. Nematologica, 2, 285-299.

HESLING J.J., I958 a - The efficiency of certain grasses as hosts of cereal root eelworm. Plant Pathology, 7 (4), I4I-I43 (Helminth. Abstr. 30,N° 895)

" " , I958 b - Heterodera major O. SCHMIDT, I930.- Population changes in the field and in pots of fallow soil. Nematologica, 3 (4), 274-282.

" " , I959 a - The identification of Heterodera cysts. In: Plant Nematology. Edit. by J.F. Southey. Tech. Bull. 7, Minst. Agric. London, H.M.S.O., 64-70.

" " , I959 b - Some observations on the cereal root eelworm population of field plots of cereal with different sowing times and fertilizer treatments. Ann. appl. Biol., 47 (3), 402-409.

" " , I959 c - The emergence of larvae of Heterodera rostochiens s WOLL. from single cysts. Nematologica, 4, I26-I3I.

" " , I965 - Heterodera : Morphology and identification. In : Plant Nematology. Edit. by J.F. Southey. Tech. Bull. 7 (2th.Edit.)' Minst. Agric. London H.M.S.O., I03-I30

HIRSCHMANN H., I962 - The life cycle of Ditylenchus triformis (Nematoda : Tylenchida) with emphasis on post-embrionie development. Proc. Helminth. Soc. Wash. 29, 30-43.

HIRSCHMANN H. and SASSER J.N., I955 - On the occurrence of an intersexual form in Ditylenchus triformis, n. sp. (Nematoda, Tylenchida). Proc. Helminth. Soc. Wash., 22 (2), II5-I23)

HIRSCHMANN H. and TRIANTAPHYLLOU A.C., I965, Comparative cytological and morphometric studies in some parthenogenetic Heterodera species. Phytopath. 55,(Ann. Abstr. I06I).

JANZEN G.J. and TUIN F. van der, I956 - The unknown hatching agent for the potato-root eelworm. (Some purification aspects).Nematologica, I, I26-I37.

JONES F.G.W., I950 - Observations en the beet eelworm and other cyst-forming species of Heterodera. Ann. Appl. Biol. 37 (3), 407-440.

" " , I952 - Differentiation of species of Heterodera (II) Proc. Int. Nem. Symp. Harpenden, I95I, 286, 52-57., F.A.O. Rome, Italy.

" " , I955 - Quantitative methods for the estimation of cyst-forming nematodes (Heterodera spp.) in soil.- In : Soil Zoology. Edit. by Mc. E.KEVAN. London, Butterworths. p.394-402.

JONES F.G.W. and MORIARTY F., I956 - A preliminary experiment on the effect of various cereals on the soil population of cereal root eelworm, Heterodera major O. SCHMIDT.

KIRJANOVA E.S., I963 - Collection and diagnosis of root-nematodes of the family Heteroderidae (SKARBILOVICH, I947) THORNE, I949.- Methods for study of Nematodes. Izdat. (Akad. Nauk SSSR, MOSCOW, I963:6-32).
In: English translation of selected Russian and polish papers in Phytonematology. By: M.W. BRZESKI and B.M. ZUCKERMAN. Agr. Exp. Sta. Bull. 546 (I964)-II-25. University of Massachusetts.

.../...

KIRJANOVA E. and KRALL E., I965 - The milfoil cyst nematode. Heterodera millefolii n, sp. (Nematodes : Heteroderidae). Acad. of the U.S.S.R.. Zoological Institute. Acad. of Sciences of the Estonian S.S.R., Institute of zoology and Botany. Bioloogihine Seeria, I965 (in Russian with English Summary) N° 3, 325-328.

KORT J., I957 - Het voorkomen van het havercystenaaltje (Heterodera avenae FILIPJEV, I934 = H. major SCHMIDT I930) in Nederland. Versl. Mededel. Plant. Wageningen, n° I30, I43-I46. (Helminth.Abstr. 26, 6II).

" " , I959 - Some observations on soil population of cereal root eelworm, Heterodera avenae (= H. major) under the influence of various crops on sandy soils. T. Pl. Ziekten, 65, I-4.

" " , I960 - A technique for the extraction of Heterodera cysts from wet soil and for the estimation of their egg and larval content. Plant. Dienst-Wageningen, N° 233, pp.7.

" " , I964 - Grass species as hosts of the cereal cyst eelworm (Heterodera avenae WOLLENWEBER). Over. Mededelingen Land. Opzoe. Staat Gent, I9 (3), 783-787.

KORT J. and JACOB J.J., I956 - Een oriënterend onderzoek naar het voorkomen van en de schade veroorzaakt door het havercystenaaltje (Heterodera avenae = H. major) in I955. (Survey of the occurrence and of the damage by the cereal root eelworm (H. avenae = H. major) in I955) T. Pl. Ziekten, 62 (I), 7-II.

KORT J., DANTUMA G. and ESSEN A. Van, I964 - On biotypes of the cereal-root eelworm (Heterodera avenae) and resistance in oats and barley. Neth. J. Plant Path. 70, 9-I7.

LAAN P.A. van der, I953 - Een schimmel als parasiet van de cyste-inhoud van the aardappelcyste-naaltje (Heterodera rostochiensis WOLLENWEBER). Tijdschr. Plziekt., 59, I0I-I03.

" " " ", I956 - Onderzoekingen over schimmels, die parasiteren op de cysteinhoud van net aardappelcystenaatje (Heterodera rostochiensis WOLLENWEBER). Tijdschr. Plziekt., 62, 305-32I.

LADYGUINA N.M., I962 - On the comparative characteristics of sugar beet and cereal root nematodes. In: Nematodi vrednie v sel'skom Khozyaystve i bor'ba s nimi. (Trudi Pyatogo Vsesoyuznogo Soveshchaniya Fitogel' mintologov, Samarkand.) I52-I63 (In Russian with english summary p.I62-I63.)

LAUGHLAND J., I947 - The oat nematode. Bull. Ontario Dept. Agric. N° 453, I2 pp. (Helminth. Abstr. I6, n° 205 a).

LINDHARDT K., I960, Nogle undersøgelser over infektionsgradens indflydelse på havreålens Køn (Heterodera major O. SCHMIDT, I930). T. Planteavl, 64 (5), 889-896. (Helminth. Abstr. 30, n° 2645).

LORDELLO L.G.E. and ZAMIT A.P.L., I958 - On the Morphology of the coffee Root-Knot Nematode, Meloïdogyne exigua GOELDI, I887. Proc. Helminth. Soc. Wash. 52 (2), I33-I37.

.../...

LOWNSBERY B.F. and PETERS B.G., I955 - The relation of the tobacco cyst nematode to tobacco growth. Phytopathology 45, I63-I67.

LUNDEGARDH H., I945 - Absorption, transport and exudation of inorganic ions by the roots. Arkiv Bot. K. Svenska Vetens Band 32 A, n° I2, I39 pp.

LUNDEGARDH H. and STENLID G., I944 - On the exudation of nucleotides and flavanone from living roots. Arkiv Bot. K. Svenska Vetens. Band 3I A, n° I0, 27 pp.

MACKINTOSH G.M., I960 - The Morphology of the brassica root eelworm Heterodera cruciferae FRANKLIN, I945. Nematologica 5, I58-I65.

MC BETH C.W., TAYLOR L. and SMITH A.L., I94I - Note on staining nematodes in root tissue. Proc. Helminth. Soc. Wash. 8 (I), 26pp

MC KENNA L.A. and WINSLOW R.D., I963 - The effects of various infestation techniques on the development of the potato root eelworm, with observations on the length of the life cycle in a heated glasshouse. The Research and Experimental Record of the Ministry of Agriculture. Northern Ireland. Vol. XII. Part 2, 97-I0I (Helminth. Abstr. 34 n°24I)

MAGGENTI A.R. and ALLEN M.W., I960 - The origin of the gelatinous matrix in Meloïdogyne. Proc. Helm. Soc. Wash 27 (I), 4-I0.

MAMONOVA Z.M., I959 - Heterodera avenae FILIPJEV, I934 in Bashkir A.S.S.R. Tr. Gelmint. Lab. Akad. Nauk SSSR, 9, I88-I89 (Helminth. Abstr.28, n° 203 bp).

MARRIAN D.H., RUSSEL B.B. and TODD A.R., I949 - The potato eelworm hatching factor. 6 - Attempts to prepare artificial hatching agents. Part II. Some active arylidene-Δ[α,β]-Bultenolides and related compounds. Bioch. Journ.,45 (5):533-537.

MARRIAN D.H., RUSSEL P.B., TODD A.R. and WARING W.S., I949 - The potato eelworm hatching factor. 3 - Concentration of the factor by chromatography. Observations on the nature of eclepic acid. Bioch. Jour., 45 (5)24-528.

MAUPAS E., I900 - Modes et formes de reproduction des nematodes. Arch. Zool. Exp. Gl. Ser. 3 Tom 8, 465-624.

MEZETTI A., I953 - Osservazioni sull'anguillulosi radicale dei cereali in Italia. Ann. Sperim. Agr. nuova ser., 7 (3), 743-758.

MILLIKAN C.R., I938 - Eelworm (Heterodera schachtii SCHMIDT) disease of cereals. J. Dept. Agric. Vict. 36, 452-468 and 507-520.

MINZ G., I957 - Crop damage by nematodes in Israël. Nematologica II, SuppL. (I957, 405 S.

MOLZ E., I920 - Versuche zur Ermittlung des Einflusses äusserer Faktoren auf das Geschlechtsverhältnis des Rübennematoden (Heterodera schachtii A. SCHMIDT.). Landw. Jahrb. 54, 769-79I.

.../...

MORGAN D.O., I926 - Some remarks on the etiology of potato disease in Lincolnshire. Jour. Helminth., 4 (2), 49-52.

MORTENSEN M.L., ROSTRUP S. and KØLPIN RAVM F., I908 - Oversigt over Landbrugsplanternes Sygdomme i I907. Tid. Land. Plant. I5, I45-I58 (Le Nématode des céréales p. I5I).

MULVEY R.H., I957 - Taxonomic value of the cone top and the underbridge in the cyst-forming nematodes Heterodera schachtii, H. schachtii var. trifolii and H. avenae (Nematoda: Heteroderidae). Canad. Jour. Zool. 35, 42I-423.

" " , I958 - Parthenogenesis in a cyst-forming nematide, Heterodera trifolii (Nematoda : Heteroderidae) Can. Jour. Zool. 36, 9I-93.

" " , I959 a - Preliminary studies on oögenesis in a cyst-forming nematode Heterodera avenae (Nematoda : Heteroderidae).Nematologica,4, I-2.

" " , I959 b - Giant eggs of the clover cyst-nematode Heterodera trifolii GOFFART, I932. Nature, London, I84, I662-I663.

" " , I959 c - Investigations on the clover cyst nematode, Heterodera trifolii (Nematoda : Heteroderidae). Nematologica, 4, I47-I56.

" " , I960 a - The value of cone top and underbridge structures in the separation of some cyst-forming nematodes. In : Nematology. Edited by: J.N. Sasser and W.R. Jenkins. The University of North Carolina Press Chapel Hill. - p.2I2-2I5.

" " , I960 b - Oögenesis in some species of Heterodera and Meloïdogyne (Nematoda : Heteroderidae). In. Nematology. Edited by : J.N. Sasser and W.R. Jenkins. The University of North Carolina Press Chapel Hill. p. 323-330.

" " , I960 c - Parthenogenesis and the role of the male in reproduction. In : Nematology. Edited by : J.N. Sasser and W.R. Jenkins. The University of North Carolina Press Chapel Hill. p. 33I-335.

" " , I960 d - Giant larvae of the clover cyst-nematode Heterodera trifolii (Nematoda : Heteroderidae). Nematologica 5, 53-55.

" " , I960 e - Abnormalities in second-stage larvae of Heterodera trifolii GOFFART, I932 (Nematoda : Heteroderidae).Canad.Jour. Zool. 38 (4 , 777-779.

MULLER G., I958 - Morphologische Untersuchungen zur Variabilität des Kartoffelnematoden Heterodera rostochiensis WOLLENWEBER. Biol. Zbl. 77, 673-7I4.

MURPHY P.W. and DONCASTER C.C., I957 - A culture method for soil meiofanna and its application to the study of nematode predators. Nematologica,2, 202-2I4.

NAGAKUVA, Von K., I930 - "Uber den Bau und die Le bensgeschichte der Heterodera radicicola (GREEF) MULLER. Japanese Jour. Zool. 3 (3), 95-I60.

.../...

NIGON V., I965 - Developpement et reproduction des Nématodes. "Traité de Zoologie" PP. GRASSE, T. IV, Fasc. II, 2I8-386.

NILSSON-EHLE H., I920 - Über resistenz gegen Heterodera schachtii bei gewissen Gerstensorten, ihre Vererbungsweise und Bedeutung für die Praxis. Hereditas, I, I.

O'BRIEN D.G. and PRENTICE E.G., I930 - An eelworm disease of potatoes caused by Heterodera schachtii. Scot. J. Agric., I3, 4I5-432.

ONIONS T.G., I953 - Giant larvae of the potato eelworm, Heterodera rostochiensis WOLLENWEBER. Nature, London, I72, 249-250.

" " , I955 - The distribution of hatching within the cyst of the potato root eelworm, Heterodera rostochiensis. Quart. Jour. Micr. Sci.,96 (4) 495-5I3.

" " , I957 - Emergence of larvae from sealed cysts of the potato root eelworm, Heterodera rostochiensis WOLLENWEBER. Nature, London, I79, 323-324.

OOSTINBRINK, M., I950 - Het aardappelaaltje (Heterodera rostochiensis WOLLENWEBER) een gevaarlijke parasiet voor de eenzijdige aardappel-cultuur. Versl. Plziekt. Dienst Wageningen, II5, 230 pp.

" " ., I954 - Een doelmatige methode voor het toetsen van aaltjesbestrijdingsmiddeden in grond met Hoplolaimus uniformis als proedfier. Meded. LandbHogesch. Gen I9, 377-408.

" " , I960 a - Estimating nematode populations by some selected methods. In : Nematology. Edited by : J.N. Sasser and W.R. Jenkins. The University of North Carolina Press Chapel Hill., p. 85-I02.

" " , I960 b - The genus Heterodera. In:Nematology. Edited by : J.N. Sasser and W.R. Jenkins. The University of North Carolina Press Chapel Hill. p. 206-2II.

OOSTENBRINK M. and DEN OUDEN H., I954 - De structuur van den Kegeltop als taxonomisch Kenmerk bij Heterodera-soorten met citroenvormige cysten. Tijds. Plantenziekten, 60, I46-I5I.

OUDEN H. Den, I960 - A note on parthenogenesis and sex determination in Heterodera rostochiensis WOLL.. Nematologica, 5, 2I5-2I6.

PARKINSON D., I955 - Liberation of amino acids by oat seeding. Nature, London I76, 35-36.

PETERS B.G., I95I - The term "Eelworm-free soil" in plant quarantine regulations. Nature, London, I67, p. 368

" " , I952 - Toxicity tests with vinegar eelworm : I. Counting and culturing. Jour. Helminthology,26, 97-II0

PETERS B.G. and LEIPER J.W.G., I940 - "Variations in dilution-counts of Helminth eggs. Jour. Helminthology, I8 (2-3), II7-I42.

.../...

PIEGAT M. and WILSKI A., I965 - Cytological differences in root cells of susceptible and resistant potato varieties invaded by potato root eelworm (H. rostochiensis WOLL.) larvae. Nematologica, II, I09-II5.

PRASAD N., MATHUR R.L. and SEHGAL S.P., I959 - Molya disease of wheat and barley in Rajasthan. Current Science. Bangalore, 28 (II), 453. (Helmint. Abstr. 30, n° 9I4).

PUTNAM D.F. and THORNE G., I935 - Eelworm disease on oats. Ann. Rep. Canad. Pl. Dis. Surv., I4th (I934), I2-I3. (Helminth. Abstr. 4, n° 93 a).

PUTNAM D.F. and CHAPMAN L.J., I935 - Oat seedling diseases in Ontario. I. The oat nematode Heterodera schachtii SCHM. Sci. Agric. I5 (9), 633-65I. (Helminth. Abstr. 4, n° 656 a).

RADEMACHER B. Von, I964 - Komplexe Schadwirkung auf Hafer durch Befall mit Hafernematoden (Heterodera avenae FILIPJEW) und unzureichenden Bodenschluss infolge mangelhafter Stoppelzersetzung. Z. Pflanzenkr. Pflanzenschutz. 7I (2-3), I2I-I25.

RASKI D.J., I950 - The life history and morphology of the sugar-beet nematode, Heterodera schachtii SCHMIDT., Phytopathology, 40 : 135-152.

REID E., I955 - A rolling method for opening cysts of potato-root eelworm. Plant Path. 4, 28-29.

RITTER M., I96I - Biologie, variations de population et importance pratique dans le Midi de la France d'Heterodera avenae FILIPJEV (I934), nématode parasite des céréales. 86e Congrès des Sociétés savantes 1961 : 657-667.

RIVIERE J., I959 - Contribution à l'étude de la rhizosphère du blé. Thèse, Fac. Sci. Paris, 245 pp.

ROLFE S.W.H., I959 - Cereal root-eelworm. In:Plant Nematology. Edited by : J.F. Southey. Tech. Bull. 7, Ministr. Agric. London H.M.S.O.,p.95-I00

ROVIRA A.D., I956 - Plant root excretions in relation to the rhizosphre effect. I.-The nature of root exudate from oats and peas. Plant and Soil, 7, (2), I78-I94.

ROZSYPAL J., I934 - Houby na hád'átku řepném Heterodera schachtii SCHMIDT v moravských pudách (Pilze in Cysten von Heterodera schachtii SCHMIDT usa mährischen Rübenboden). Bull. Acad. Tchécoslovaque Agric., I0, 4I3-422.

RUSSEL P.B., TODD A.R. and WARING W.S., I949 a - The potato eelworm hatching factor. 4.- Solanum nigrum as a sourse of the potato eelworm hatching factor. Bioch. Jour., 45 (5), 528-530.

" " " , I949 b - The potato eelworm hatching factor. 5.- Attempts to prepare artificial hatching agents. Part I. Some furan derivates. Bioch. Jour., 45 (5), 530-532.

SASSER J. and JENKINS W.R., I960 - Nematology. Fundamentals and Recent Advances with Emphasis on plant parasitic and soil forms. The University of North Carolina Press Chapel Hill., 480 pp.

.../...

SAVARY A., I957 - Le problème des nématodes dans les cultures des céréales. Rev. Romande d'Agric. de Vit. et d'Arb., I3 (II), 93-94. (Helminth. Abstr. 29, n° I909).

SCHMIDT O., I930 - Sind Rüben-und Hafer-Nematoden identisch? . Pflanzenbau, 3 420-464.

" " , I93I - Beiträge zur Rassenfrage bei Heterodera schachtii. Arch. PflBau, 7 (I), I47-I68.

SCHØYEN T.H., I926 - Beretning om sKadeinsektenes optreden i land-og havebruket i årene I924 og I925. Oslo: Grøndal and Søns, 3I pp. (Le Nematode des céréales en page I).

SCOTTO LA MASSESE C., I96I - Aperçu sur les problèmes posés par les nématodes phytoparasites en Algérie. In : "Les Nématodes". Collection Phytosanitaire. Journées d'études et d'information C.N.R.A., Versailles. I6-I7 Novembre I96I, p. 83-I09.

SEINHORST J.W., I956 - The quantitative extraction of nematodes from soil. Nematologica, I (3), 249-267.

" " , I964 - Methods for the extraction of Heterodera cysts from not previously dried soil samples. Nematologica,I0, 87-94.

SENGBUSCH R.V., I927 - Beitrag zur Biologi den Rüben-nematoden, Heterodera schachtii. Jtschr. Pflanzenkrank und Pflanzenschutz. 37, 36-I02.

SHAMIM JAIRAJPURI M. and SIDDIGI A.H., I964 - Intersexuality in Tyleptus striatus. Nematologica, I0, I82-I83.

SHEPHERD A.M., I959 - Increasing the rate of larval emergence from cysts in hatching tests with beet eelworm, Heterodera schachtii SCHMIDT. Nematologica, 4, I6I-I64.

" " , I962 - The Emergence of Larvae from cysts in the Genus Heterodera. Technical Communication n° 32 of the Comm. Bur. Helminth. Comm. Agric. Bur. England.

" " , I965 - Heterodera : Biology. In : Plant Nematology. Edited by : J.F. Southey. Technical Bull. 7 (Second Edition) Minist. Agric. London, H.M.S.O., p. 89-I02.

SLEDGE E.B. and GOLDEN A.M., I964 - Hypsoperine graminis (Nematoda :Heteroderidae): a new genus and species of Plant-parasitic Nematode. Proc. Helminth. Soc. Wash. 3I (I), 83-88.

SOUTHEY J.F., I955 - Survey of cereal root eelworm in England and Wales, I954. Plant Pathology,4, 98-I02.

" " , I956 - National survey work for cereal root eelworm (Heterodera major (O. SCHMIDT) FRANKLIN). Nematologica,I, 64-7I.

STEINER G., I923 - Intersexes in nematodes. Jour. Hered. I4 (4), I47-I58.

STØEN M., I96I - Havrenematoden et nytt skadedyr på Korn i Norge. Norsk Landbruk, I5/I6, 530-53I. (Helminth. Abstr. 3I, n° I867).

.../...

STONE L.E.W., I956 - Cereal root eelworm : a farm survey. Plant Path. London, 5 (I), 24-25. (Helminth Abstr. 25, n° I3I a).

" " , I960 - Field experiments on cereal root eelworm. Ann. appl. Biol. 48 (4), 68I-686.

" " , I96I - Oats as a trap-crop for cereal root eelworm. Plant Pathol. IO (4), p. I64.

STRUBELL A., I888 - Untersuchungen über den Bau und die Entwicklung des Rübennematoden, Heterodera schachtii SCHMIDT. Bibliotheca Zoologica I, I-52.

SVESHNIKOVA N.M., I956 - A review of the study of nematodes in the families Heteroderidae and Tylenchidae, causing crop diseases in the U.S.S.R. Nematologica I (2), I5I-I58.

SWARUP G. and SINGH K., I96I - Molya disease of wheat and barley in Rajasthan. Indian Phytoph. I4, I27-I33.

SWARUP G., PRASAD S.K. ans RASKI D.J., I964 - Some Heterodera species from India. Plant Disease Rep. 48 (3), p. 235.

TAYLOR A.L., I957 - Heterodera taxonomy. Proc. S-I9 Workshop in Phytonematology I957, University of Tennesee : I-I2.

THEOBALD F.V., I908 - Animals injurious to corn crops. An attack of Heterodera on oats. J.S.E., Agric. Coll. Wye n° I7, I50-I5I.

" " , I909 - Animals injurious to corn crops. Wheat attacked by Heterodera. J.S.E., Agric. Coll. Wye. N° I8, I42-I44.

THOMAS I., BROWN E.B. and WILLIS R.J., I946 - The cereal root eelworm, Heterodera major (O. SCHMIDT) FRANKLIN, in North Wales. Ann. Appl. Biol. 33 (I), 63-65. (Helminth. Abstr. I5, n° 8a).

THORNE G., I96I - Principles of Nematology. New York, McGrau-Hill., 553 pp.

TOXOPEUS H.J., I956 - Some remarks on the development of new biotypes in Heterodera rostochiensis that might attack resistant potato-clones. Nematologica, I,(2), I00-I0I.

TRACEY M.V., I958 - Cellulase and chitinase in plant nematodes. Nematologica, 3, I79-I83.

TRIANTAPHYLLOU A.C., I960,- Sex determination in Meloïdogyne incognita CHITWOOD, I949, and intersexuality in M. javanica (TREUB. I885) CHITWOOD, I949. Ann. Inst.Phytopath.,Benaki,N.S. 3 : 12-31.

TRIANTAPHYLLOU A.C. and HIRSCHMANN H., I959 - Development and sex determination in M. incognita and intersexuality in M. javanica. Phytopathology 49, 552-553.

TRIFFITT M.J., I929 - "Further observations on the morphology of Heterodera schachtii, with remarks on the bionomics of a strain attacking mangolds in Britain". Jour.HelmintH., 7 (3), II9-I40.

" " , I930 a - Observations on the life cycle of Heterodera schachtii. Jour. Helminth. 8, I85-I96.

" " , I930 b - On the bionomics of Heterodera schachtii on potatoes, with special reference to the influence of mustard on the escape of the larvae from the cysts. Jour. Helminth. 8 (I), I9-48.

.../...

TYLER J., I933 a - Reproduction without males in aseptic root cultures of the root-knot nematode. Hilgardia, 7 (I0), 373-388.

" ", I933 b - Development of the root-knot nematode as affected by temperature. Hilgardia, 7 (I0), 39I-4I5.

VOIGT W., I894 - Neue Varietät des Rübennematoden (Heterodera schachtii). Verh . Naturhist. Ver Preuss Rheinlande 5I (SB. niederrhein. Ges. Natur-Heilkunde), 94-97.

WALLACE H.R., I954 - Hydrostatic pressure deficiency and the emergence of larvae from cysts of the beet eelworm. Nature, London., I73-502.

" " , I955 a - Factors influencing the emergenee of larvae from cysts the beet eelworm, Heterodera schachtii SCHMIDT. Jour. Helminth. 29 (I/2), 3-I6.

" " , I955 b - The influence of soil moisture on the emergence of larvae from cysts of the beet eelworm, Heterodera schachtii, SCHMIDT. Ann. Appl. Biol., 43,3)477-484.

" " , I956 a - Migration of nematodes. Nature, London, I77, 287-288.

" " , I956 b - The emergence of larvae from cysts of the beet eelworm, Heterodera schachtii SCHMIDT, in aqueous solutions of organic and inorganic substances. Ann. Appl. Biol. 44 (2), 274-282.

" " , I956 c - The effect of soil structure on the emergence of larvae from cysts of the beet eelworm. Nematologica, I, I45-I46.

" " , I956 d - Soil aeration and the emergence of larvae from cysts of the beet eelworm, Heterodera schachtii SCHM. Ann. Appl. Biol,, 44 (I) 57-66.

" " , I958 a - Movement of eelworms. I. The influence of pore size and moisture contents of the soil on the migration of larvae of the beet eelworm, Heterodera schachtii SCHMIDT. Ann. Appl. Biol. 46, 74-85.

" " , I958 b - Observations on the emergence from cysts and the orientation of larvae of three species of the genus Heterodera in the presence of host plant roots. Nematologica. (3),(I958), 236-243.

" " , I959 - Further observations on some factors influencing the emergence of larvae from cysts of the beet eelworm, Heterodera schachtii SCHMIDT. Nematologica, 4, 245-252.

WEST P.M., I939 - Excretion of thiamin and biotin by the roots of higher plants. Nature, London, I44, I050-I95I.

WIESER W., I953 - On the structure of the cyst wall in four species of Heterodera SCHMIDT. Medd. Växtskyddsanst. Stockh., 65, I-I5.

WIDDOWSON E. and WILTSHIRE G.H., I958 - The potato-eelworm hatching factor. Ann. Appl. Biol. 46 (I), 95-I0I. (Helminth. Abstr. 27, n° 8c).

WILLIAMS T.D., I957 - Development of isolated female larvae of the potato-root eelworm (Heterodera rostochiensis WOLL.). Nature, London, I80-I000 pp.

.../...

WILLIAMS T.D. and WINSLOW R.D., I955 - A synopsis of some laboratory techniques used in the quantitative recovery of cyst-forming and other nematodes from the soil. In : Soil Zoology, Edited by D.K. Mc E. KEVAN, Londnn Butterworths, p. 375-384

WILSKI A., I960 - On the occurence of the cereal root eelworm, Heterodera avenae WOLLENWEBER, I924 (= H. major) in soils of Bydgoszcz district. Biul. Insty. Ochrony Roślin. Poznan, IO,I85-I9I (Helminth. Abstr. 33, n° I49I.)

WINSLOW R.D., I954 - Provisional lists of host plants of some root eelworms (Heterodera spp.).Ann. Appl. Biol. 4I (4), 59I-605.

" " , I955 a - The hatching responses of some root eelworms of the genus Heterodera. Ann. Appl. Biol., 43 (I), I9-36.

" " , I955 b - A new method for the production and recovery of cysts of root-eelworms (Heterodera spp.) for use in bio-assay. Journ. Helminth. 29 (1/2):49-54.

" " , I959 - A note on anhydrotetronic acid as a hatching agent of the beet eelworm, Heterodera schachtii SCHM. Nematologica 4, 237-238.

WOOD R.R. and SERRO R.F., I954 - Identification of some materials in root exudates of nematode (Heterodera schachtii SCHMIDT) host plants. Proc. Amer. Soc. Sug. Beet Technol., 8, 27I-275.

YUAN PING H., I963 - Studies on the life cycle and host range of the lespedeza cyst nematode. Phytopathology, 53 (8), 878-879.

----ooOoo----

WILLIAMS T.D. and WINSLOW R.D., 1955 - A synopsis of some laboratory techniques used in the quantitative recovery of cyst-forming and other nematodes from the soil. In : Soil Zoology. Edited by D.K. Mc E. KEVAN. London Butterworths, p. 375-384.

WILSKI A., 1960 - On the occurrence of the cereal root eelworm, Heterodera avenae WOLLENWEBER, 1924 (= H. major) in soils of Bydgoszcz district. Biul. Inst. Ochrony Roślin. Poznań, 10,1965-1971 (Helminth. Abstr. 35, n° 1491.)

WINSLOW R.D., 1954 - Provisional lists of host plants of some root eelworms (Heterodera spp.). Ann. Appl. Biol. 41 (4), 591-605.

" " , 1955 a - The hatching responses of some root eelworms of the genus Heterodera. Ann. Appl. Biol., 43 (1), 19-36.

" " , 1955 b - A new method for the production and recovery of cysts of root-eelworms (Heterodera spp.) for use in bio-assay. Journ. Helminth. 29 (1/2):49-54.

" " , 1959 - A note on anhydrotetronic acid as a hatching agent of the beet eelworm, Heterodera schachtii SCHM. Nematologica 4, 237-238.

WOOD R.F. and SEHRO R.F., 1954 - Identification of some materials in root exudates of nematode (Heterodera schachtii SCHMIDT) host plants. Proc. Amer. Soc. Sug. Beet Technol., 8, 271-275.

YUAN PING H., 1959 - Studies on the life cycle and host range of the Iaspedera cyst nematode. Phytopathology. 53 (8), 878-879.

---oOo---